

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**E.A.P. DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**Variación bimestral de la densidad bacteriana  
bentónica y su relación con factores oceanográficos y  
sedimentarios frente al Callao durante el año 2007**

**TESIS**

Para optar al Título Profesional de Biólogo con mención en Microbiología  
y Parasitología

**AUTOR**

D'Hourdes Isabel Cuadra Collaton

**ASESORES**

Jorge León Quispe

Dimitri Gutiérrez Aguilar

**Lima - Perú**

**2011**

## **AGRADECIMIENTOS**

Deseo expresar mis agradecimientos al Dr. Dimitri Gutiérrez, por la asesoría y apoyo que me otorgó en la realización de la presente tesis. Al profesor Jorge León, con quien he trabajado desde mis años de estudios, y a quién debo gran parte de mi formación como bióloga. Gracias maestros.

De igual forma, agradezco al Instituto del Mar del Perú y al Instituto de Investigación para el Desarrollo, que brindaron soporte en el desarrollo de todo el trabajo. A todas las personas que brindaron su apoyo, el Blgo. Edgardo Enriquez, Blgo. Luis Quipuzcoa y Roberto Marquina del Laboratorio de Bentos Marino, al staff de los laboratorios de Oceanografía Química y Geología Marina, y a la Blga. Rita Orozco, del laboratorio de Microbiología de IMARPE.

Al Dr. Wilbert Serrano por todos sus consejos y guía en el desarrollo del presente trabajo. A los profesores de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por todos los conocimientos impartidos durante mis años de estudio; por inculcarnos una actitud reflexiva y crítica. Igualmente, al staff de la Biblioteca de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNMSM, por su paciencia, buen humor y voluntad para apoyar.

A mi familia y amigos por su apoyo incondicional: a mi madre, tías y hermano. A Daniel, por todo su aliento y cariño. Y de manera muy especial, a mi querida tía Graciela, quien siempre me ha brindado una valiosa ayuda a lo largo y en diferentes aspectos de mi vida. A ella mi más profundo agradecimiento.

## ÍNDICE GENERAL

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2. MARCO TEÓRICO</b>	<b>5</b>
<b>2.1. Remineralización de la materia orgánica en sedimentos marinos</b>	<b>5</b>
2.1.1. Metabolismo bacteriano	5
2.1.2. Remineralización de la materia orgánica e influencia del oxígeno en sedimentos marinos	11
<b>2.2. Factores ambientales en el área de estudio</b>	<b>17</b>
<b>2.3. Técnicas de recuento y de estimación de biomasa bacteriana</b>	<b>21</b>
<b>2.4. Antecedentes</b>	<b>27</b>
<b>3. OBJETIVOS</b>	<b>30</b>
3.1. Objetivo general	30
3.2. Objetivos específicos	30
<b>4. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>31</b>
4.1. Área de estudio	31
4.2. Colección de muestras	32
4.2.1. Agua de fondo	32
4.2.2. Sedimento	32
4.3. Procesamiento de las muestras	33
4.3.1. Determinación de los parámetros oceanográficos y sedimentarios	33
4.3.2. Determinación de la densidad bacteriana	34
4.3.3. Determinación del biovolumen y biomasa bacteriana	35
4.4. Tratamiento estadístico	36
<b>5. RESULTADOS</b>	<b>38</b>
5.1. Análisis descriptivo de las variables microbianas	38
5.2. Análisis de correlación entre las variables microbianas y los factores oceanográficos y sedimentarios	40
<b>6. DISCUSIÓN</b>	<b>45</b>
6.1. Densidad microbiana	45
6.2. Biovolumen y biomasa microbiana	49
6.3. Influencia de los parámetros oceanográficos y sedimentarios sobre las variables microbianas densidad, biovolumen y biomasa	54

<b>7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>60</b>
<b>8. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>61</b>
<b>9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>62</b>

## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

<b>Tabla 1.</b> Procesos catabólicos quimiotróficos (disimilativos) mediados por microorganismos. Fuente: Canfield <i>et al.</i> , 2005.....	7
<b>Tabla 2.</b> Energía libre de Gibbs estándar calculada para las principales vías respiratorias en la remineralización de la materia orgánica en la naturaleza, con H <sub>2</sub> y acetato como donadores de electrones .....	10
<b>Tabla 3.</b> Comparación de recuento directo con epifluorescencia y recuento de viables en placa (número por gramo). Fuente: Atlas y Bartha, 2002. ....	22
<b>Tabla 4.</b> Fluorocromos para ácido nucleicos. Los picos de longitud de onda de excitación y emisión pueden variar dependiendo del ambiente en el que se encuentren. Fuente: Chambers, 1996.....	24
<b>Tabla 5.</b> Ubicación geográfica de los puntos de muestreo .....	70
<b>Tabla 6.</b> Valores integrados de densidad microbiana, biomasa bacteriana y clorofila en las estaciones 1, 2 y 4 durante los meses de febrero, abril, junio, agosto, octubre y diciembre del 2007. ....	70
<b>Tabla 7 (a, b, c, d, e, f).</b> Valores de densidad (cel./cm <sup>3</sup> ), biovolumen (µm <sup>3</sup> /cel.), biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> ), y clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> ) por nivel durante los meses de (a) febrero, (b) abril, (c) junio, (d) agosto, (e) octubre y (f) diciembre del 2007. ....	71
a. Mes: febrero .....	71
b. Mes: Abril.....	71
c. Mes: Junio .....	72
d. Mes: Agosto .....	72
e. Mes: Octubre.....	73
f. Mes: Diciembre .....	73
<b>Tabla 8.</b> Parámetros Oceanográficos: Oxígeno (mL.L <sup>-1</sup> ), Temperatura (°C), y Salinidad (UPS) en las estaciones 1, 2 y 4 durante el muestreo bimensual en el año 2007.....	74
<b>Tabla 9.</b> Parámetros Sedimentarios: potencial redox (mV), COT (%), y clorofila superficial (µgChla/gramo de sedimento seco) en las estaciones 1, 2 y 4 durante el muestreo bimensual en el año 2007. ....	75
<b>Tabla 10.</b> Correlación entre las variables microbianas (densidad (cel./cm <sup>3</sup> ), biovolumen (µm <sup>3</sup> /cel.), biomasa (µgC/cm <sup>3</sup> )) y los parámetros oceanográficos (oxígeno (mL.L <sup>-1</sup> ), temperatura (°C) y salinidad (UPS)) del nivel 1 de todas las estaciones. (a) Prueba de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk. (b) Correlación de Spearman. ....	76
<b>Tabla 11.</b> Correlación entre las variables microbianas (densidad (cel./cm <sup>3</sup> ), biovolumen (µm <sup>3</sup> /cel.), biomasa (µgC/cm <sup>3</sup> )) y los parámetros sedimentarios (potencial redox (mV),	

COT (%) y clorofila ( $\mu\text{gChla}/\text{cm}^3$ ) del nivel 1 de todas las estaciones. (a) Prueba de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk. (b) Correlación de Spearman. ....	77
<b>Tabla 12.</b> Correlación entre las variables microbianas (densidad ( $\text{cel.}/\text{cm}^3$ ), biovolumen ( $\mu\text{m}^3/\text{cel.}$ ), biomasa ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ )) y el parámetro sedimentario clorofila ( $\mu\text{gChla}/\text{cm}^3$ ) para todos los niveles de todas las estaciones. (a) Prueba de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk. (b) Correlación de Spearman. ....	78
<b>Tabla 13.</b> Pruebas de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov, y Shapiro-Wilk para las variables microbianas (densidad ( $\text{cel.}/\text{cm}^3$ ), biovolumen ( $\mu\text{m}^3/\text{cel.}$ ) biomasa ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ )) y los parámetros oceanográficos (a) y sedimentarios (b). Estación 1 = 48 m. ....	79
<b>Tabla 14.</b> Correlación de Pearson entre las variables microbianas (densidad ( $\text{cel.}/\text{cm}^3$ ), biovolumen ( $\mu\text{m}^3/\text{cel.}$ ) biomasa ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ )) y los parámetros oceanográficos (a) y sedimentarios (b). Estación 1 = 48 m. ....	80
<b>Tabla 15.</b> Pruebas de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov, y Shapiro-Wilk para las variables microbianas (densidad ( $\text{cel.}/\text{cm}^3$ ), biovolumen ( $\mu\text{m}^3/\text{cel.}$ ) biomasa ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ )) y los parámetros oceanográficos (a) y sedimentarios (b). Estación 2 = 93 m. ....	82
<b>Tabla 16.</b> Correlación de Pearson entre las variables microbianas (densidad ( $\text{cel.}/\text{cm}^3$ ), biovolumen ( $\mu\text{m}^3/\text{cel.}$ ) biomasa ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ )) y los parámetros oceanográficos (a) y sedimentarios (b). Estación 2 = 93 m. ....	83
<b>Tabla 17.</b> Pruebas de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov, y Shapiro-Wilk para las variables microbianas (densidad ( $\text{cel.}/\text{cm}^3$ ), biovolumen ( $\mu\text{m}^3/\text{cel.}$ ) biomasa ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ )) y los parámetros oceanográficos (a) y sedimentarios (b). Estación 4 = 143 m. ....	85
<b>Tabla 18.</b> Correlación de Pearson entre las variables microbianas (densidad ( $\text{cel.}/\text{cm}^3$ ), biovolumen ( $\mu\text{m}^3/\text{cel.}$ ) biomasa ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ )) y los parámetros oceanográficos (a) y sedimentarios (b). Estación 4 = 143 m. ....	86
<b>Tabla 19.</b> Correlación entre las variables microbianas (densidad ( $\text{cel.}/\text{cm}^3$ ), biovolumen ( $\mu\text{m}^3/\text{cel.}$ ), biomasa ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ )) y clorofila ( $\mu\text{gChla}/\text{cm}^3$ ) para todos los niveles de cada estación. (a) Prueba de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk. (b) Correlación de Spearman. ....	88
<b>Tabla 20.</b> Pruebas estadísticas de U Mann Whitney para comparar los valores de las variables microbianas de densidad ( $\text{cel.}/\text{cm}^3$ ), biovolumen ( $\mu\text{m}^3/\text{cel.}$ ) y biomasa ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ ) respecto a su profundidad en el sedimento. Se comparó el nivel 1 vs el nivel 4 de cada estación. ....	90
<b>Tabla 21.</b> Prueba estadística de Kruskal Wallis para comparar por profundidad los valores de las variables microbianas de densidad ( $\text{cel.}/\text{cm}^3$ ), biovolumen ( $\mu\text{m}^3/\text{cel.}$ ) y biomasa ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ ). (a) Tabla de rangos. (b) Prueba estadística. ....	91
<b>Tabla 22.</b> Prueba estadística de Kruskal Wallis para comparar por profundidad los valores integrados de las variables microbianas de densidad ( $\text{cel.}/\text{cm}^2$ ), y biomasa ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^2$ ). (a) Tabla de rangos. (b) Prueba estadística. ....	92

<b>Figura 1.</b> Flujo del carbono microbiano en el ecosistema marino.....	6
<b>Figura 2.</b> Consorcio microbiano de degradadores de materia orgánica. ....	9
<b>Figura 3.</b> Representación esquemática de las transformaciones de la materia orgánica en sedimentos. ....	12
<b>Figura 4.</b> Biomasa microbiana según el contenido de ATP en sedimentos marinos de <i>Halifax Harbor</i> .....	14
<b>Figura 5.</b> Distribución vertical idealizada de aceptores de electrones en sedimentos marinos. ....	15
<b>Figura 6.</b> Concentración de clorofila <i>a</i> obtenido del SeaWiFS entre 1998 y 2007. Áreas de Afloramiento señalados en círculos.....	19
<b>Figura 7.</b> Distribución de las ZMOs en el mundo. ....	19
<b>Figura 8.</b> (a) Eventos ENSO. (b) Vista geográfica del comportamiento del evento ENSO. ....	20
<b>Figura 9.</b> Ilustración de la ruta que sigue la luz en un microscopio de epifluorescencia...	23
<b>Figura 10.</b> Número de bacterias totales en sedimentos marinos frente a la costa peruana, obtenido mediante recuento directo con naranja de acridina. ....	28
<b>Figura 11.</b> Seccionamiento del sedimento contenido en el tubo, según su profundidad...	32
<b>Figura 12.</b> Mapa del área de estudio. Las estaciones se ubican en un transecto perpendicular a la costa. Se señalan las estaciones de estudio: 1, 2 y 4.....	93
<b>Figura 13.</b> Fotografía del mini-multisacatestigos de 4 tubos Oktopus durante labores de muestreo. Se lanzan los tubos abiertos y el cierre es automático al tocar el fondo. ....	94
<b>Figura 14.</b> Labores de muestreo para el análisis de microorganismos. (a) y (b) seccionamiento de los niveles de sedimento con la ayuda de un anillo metálico y espátula. (c) Homogenización del nivel seccionado. (d) Fijación de 0,5 cm <sup>3</sup> de sedimento homogenizado en 1,5 cm <sup>3</sup> de PBS-formalina.....	95
<b>Figura 15.</b> Esquema del protocolo de trabajo del procesamiento de muestras. ....	95
<b>Figura 16.</b> (a) Equipo manual de filtración. (b) Colocación de la membrana oscura en el soporte poroso.....	96
<b>Figura 17.</b> Microfotografía, tomada con cámara digital, de muestras con doble tinción DAPI – Naranja de acridina.....	96
<b>Figura 18.</b> Valores integrados de densidad microbiana (cel./cm <sup>2</sup> ) en las estaciones 1, 2 y 4 durante los meses de febrero, abril, junio, agosto, octubre y diciembre del 2007.....	97
<b>Figura 19.</b> Valores integrados de biomasa microbiana (cel./cm <sup>2</sup> ) en las estaciones 1, 2 y 4 durante los meses de febrero, abril, junio, agosto, octubre y diciembre del 2007.....	97
<b>Figura 20.</b> Resultados por niveles para la estación 1 durante los meses de estudio. (A) Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> ). (B) Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> ). (C) Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> ). (D) Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> ). ....	98

<b>Figura 21.</b> Resultados por niveles para la estación 2 durante los meses de estudio. (A) Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> ). (B) Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> ). (C) Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> ). (D) Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> ). .....	99
<b>Figura 22.</b> Resultados por niveles para la estación 4 durante los meses de estudio. (A) Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> ). (B) Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> ). (C) Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> ). (D) Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> ). .....	100
<b>Figura 23.</b> Gráfico de dispersión de puntos entre todos los valores de las variables microbianas encontrados en el nivel 1 y los parámetros oceanográficos. (A) Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> ). (B) Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> ). (C) Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> ). .....	101
<b>Figura 24.</b> Gráfico de dispersión de puntos entre todos los valores de las variables microbianas encontrados en el nivel 1 y los parámetros sedimentarios. (A) Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> ). (B) Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> ). (C) Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> ). .....	102
<b>Figura 25.</b> Gráfico de dispersión de puntos entre todos los valores de las variables microbianas y clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> ). (A) Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> ). (B) Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> ). (C) Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> ). .....	103
<b>Figura 26.</b> Gráfico de dispersión de puntos entre todos los valores de las variables microbianas encontrados en el nivel 1 y los parámetros oceanográficos dentro de la estación 1. (A) Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> ). (B) Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> ). (C) Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> ). .....	104
<b>Figura 27.</b> Gráfico de dispersión de puntos entre todos los valores de las variables microbianas encontrados en el nivel 1 y los parámetros sedimentarios dentro de la estación 1. (A) Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> ). (B) Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> ). (C) Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> ). .....	105
<b>Figura 28.</b> Gráfico de dispersión de puntos entre todos los valores de las variables microbianas encontrados en el nivel 1 y los parámetros oceanográficos dentro de la estación 2. (A) Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> ). (B) Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> ). (C) Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> ). .....	106
<b>Figura 29.</b> Gráfico de dispersión de puntos entre todos los valores de las variables microbianas encontrados en el nivel 1 y los parámetros sedimentarios dentro de la estación 2. (A) Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> ). (B) Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> ). (C) Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> ). .....	107
<b>Figura 30.</b> Gráfico de dispersión de puntos entre todos los valores de las variables microbianas encontrados en el nivel 1 y los parámetros oceanográficos dentro de la estación 4. (A) Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> ). (B) Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> ). (C) Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> ). .....	108
<b>Figura 31.</b> Gráfico de dispersión de puntos entre todos los valores de las variables microbianas encontrados en el nivel 1 y los parámetros sedimentarios dentro de la	



estación 4. (A) Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> ). (B) Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> ). (C) Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> ). .....	109
<b>Figura 32.</b> Gráfico de dispersión de puntos entre los valores de las variables microbianas y la clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> ) de todos los niveles en cada estación. (A) Estación 1 = 48 m. (B) Estación 2 = 93 m. (C) Estación 4 = 143 m. ....	110
<b>Figura 33.</b> Variables microbianas en los 4 niveles de profundidad del sedimento para la estación 1 durante el año 2007. (A) Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> ). (B) Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> ). (C) Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> ). (D) Clorofila (µgC/cm <sup>3</sup> ) .....	111
<b>Figura 34.</b> Variables microbianas en los 4 niveles de profundidad del sedimento para la estación 2 durante el año 2007. (A) Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> ). (B) Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> ). (C) Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> ). (D) Clorofila (µgC/cm <sup>3</sup> ) .....	112
<b>Figura 35.</b> Variables microbianas en los 4 niveles de profundidad del sedimento para la estación 4 durante el año 2007. (A) Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> ). (B) Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> ). (C) Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> ). (D) Clorofila (µgC/cm <sup>3</sup> ) .....	113
<b>Figura 36.</b> Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> ) en el nivel 1 y el nivel 4 versus la profundidad oceánica de la estación 1 = 48 m, estación 2 = 93 m y estación 4 = 143 m. ....	114
<b>Figura 37.</b> (A) Biovolumen (µm <sup>3</sup> ) y (B) biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> ) en el nivel 1 versus la profundidad oceánica de la estación 1 = 48 m, estación 2 = 93 m y estación 4 = 143 m. ....	115
<b>Figura 38.</b> (A) Densidad microbiana integrada (cel./cm <sup>2</sup> ) y (B) biomasa microbiana integrada (µgC/cm <sup>2</sup> ) versus la profundidad oceánica de las estaciones de estudio. Estación 1 = 48 m, estación 2 = 93 m y estación 4 = 143 m .....	116
<b>GLOSARIO</b> .....	117

## ABREVIATURAS

ENSO	: “El Niño Southern Oscillation”.
EN	: El Niño
Chla	: Clorofila a
COP	: Carbono Orgánico particulado
COT	: Carbono Orgánico Total
DAPI	: 4',6-diamidino-2-fenilindol
ZMO	: Zona mínima de oxígeno
°C	: Grados centígrados
E1	: Estación 1
E2	: Estación 2
E4	: Estación 4
DS	: Desviación estándar
AO	: “Acridine Orange” o naranja de acridina
VHDOC	: Carbono orgánico de muy alto peso molecular
HDOC	: Carbono orgánico de alto peso molecular
LDOC	: Carbono orgánico de bajo peso molecular
r cell	: microorganismo de respiración anaerobia
PLFA	: Fosfolípidos unidos a ácidos grasos
Da	: Dalton (unidad de masa)
E <sub>h</sub>	: Potencial redox
mV	: milivoltios (unidad de conductividad)
BVNC	: Bacterias viables no cultivables
MO	: Materia Orgánica
ATP	: Adenosine tri-Phosphate (trifosfato de adenosina)
ADN	: Ácido desoxirribonucleico

## RESUMEN

Los microorganismos cumplen un rol importante en la remineralización de la materia orgánica que ocurre en los sedimentos marinos. Los nutrientes obtenidos de este proceso son llevados a la superficie mediante los afloramientos que ocurren en la costa central del Perú, contribuyendo así en la alta productividad de nuestro litoral. A pesar de su importancia, se han realizado escasos estudios sobre la ecología de los microorganismos presentes en los sedimentos de nuestras costas. Es así, que el objetivo de éste trabajo fue el de determinar la densidad y la biomasa microbiana bentónicas y establecer su relación con los factores oceanográficos y sedimentarios frente al Callao, durante el año 2007. Para ello se utilizó la técnica de recuento directo con microscopía de epifluorescencia, el análisis de imágenes digitales, y el análisis de correlación. Así, la densidad varió entre  $4,35 \times 10^9$  a  $3,06 \times 10^{10}$  cel./cm<sup>3</sup>. La biomasa encontrada fue de 79,73 a 2527,93 µgC/cm<sup>3</sup>. Los valores de biovolumen oscilaron de 0,06 a 0,51 µm<sup>3</sup>/cel. Se encontró una relación positiva significativa entre la clorofila y la biomasa, así como entre la clorofila y el biovolumen en la estación más cercana a la costa. Asimismo, se encontró una relación negativa significativa entre el carbono orgánico total y las variables densidad y biomasa. La temperatura del agua de fondo mostró una relación positiva significativa tanto con la densidad como con la biomasa. Por otro lado, no se observó una disminución significativa de la biomasa respecto a la profundidad del sedimento, por lo que la materia orgánica de origen fitoplanctónico no sería el principal factor en la distribución de los microorganismos. Otros factores como la disponibilidad de aceptores de electrones, que controlan la remineralización de nutrientes, deben ser estudiados.

Palabras clave: sedimentos marinos, abundancia microbiana, biovolumen microbiano, biomasa microbiana, epifluorescencia, remineralización.

## **ABSTRACT**

Microorganisms play an important role in the remineralization of organic matter in marine sediments. Nutrients obtained by this process are taken to the surface with the upwelling at the central coast of Peru, contributing to the high productivity of this region. Nevertheless, there are few studies about the microbial ecology of marine sediments in Peru. Therefore, the objective of this study was to determine the benthic microbial density and biomass, and to establish their relationship with oceanographic and sedimentary parameters in the coast of Callao during the year 2007. The technique of direct counting by epifluorescence microscopy was used, as well as analysis of digital pictures and statistical correlation. Microbial density varied between  $4,35 \times 10^9$  and  $3,06 \times 10^{10}$  cell/cm<sup>3</sup>. Biomass values ranged from 79,73 to 2527,93 µgC/cm<sup>3</sup>. The biovolume oscillated between 0.06 and 0.51 µm<sup>3</sup>/cell. A significant positive correlation between chlorophyll and biomass, as well as between chlorophyll and biovolume at the closest station to the coast was found. A significant negative correlation between total organic carbon and both microbial density and biomass was also found. Bottom water temperature showed a significant positive correlation with both microbial density and biomass. On other hand, we did not observe a significant decrease of microbial biomass with sediment depth, therefore, we conclude that the phytoplanktonic organic matter is not the only factor that affects the distribution of microbial abundance. Other factors such as the availability of electron acceptors, which controls the nutrient remineralization, should be explored.

Keywords: marine sediments, microbial abundance, microbial biovolume, microbial biomass, epifluorescence, remineralization.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las bacterias juegan un importante rol en el ecosistema bentónico (Parkes *et al.*, 1990). Son fuente de alimento para los organismos bentónicos micrófagos y constituyen gran parte de la biomasa bentónica total (Fenchel *et al.*, 1988; Alongi, 1988; Atlas y Bartha, 2002), por lo que contribuyen significativamente a la degradación y reutilización de la materia orgánica dentro de los sedimentos (Sestanovic *et al.*, 2005). La abundancia bacteriana es mayor en el primer centímetro y va disminuyendo con la profundidad; esta misma distribución se aplica para la actividad bacteriana y está limitada por diversos factores (oxígeno, nutrientes, nitratos, sulfatos) que determinan las rutas metabólicas que los microorganismos realizan en estos ambientes, como la respiración aeróbica, reducción de sulfatos, respiración de nitratos, metanogénesis, reducción de Mn y Fe (Canfield *et al.*, 2005).

Como en todas las muestras ambientales, en los sedimentos se encuentran bacterias viables no cultivables (BVNC). Estas BVNC son microorganismos que viven y crecen en condiciones naturales pero que poseen un estado fisiológico latente, por tanto, no han podido ser cultivados en laboratorio (Pace, 1996). Se sabe que el número de microorganismos estimado con técnicas de recuento en placa no alcanza ni el 1% de los microorganismos presentes en suelos (Atlas y Bartha, 2002), por este motivo, no es adecuado para estimar la abundancia bacteriana en estos ambientes.

Una técnica ampliamente aceptada para el recuento de microorganismos en muestras ambientales es la de recuento directo con microscopía de epifluorescencia, que viene brindando resultados satisfactorios en numerosos estudios de ecología microbiana (Parkes *et al.*, 2000; Sestanovic *et al.*, 2005; Serrano, 2003; Mauclaire *et al.*, 2004). Esta técnica implica teñir la muestra con algún fluorocromo que se ligará a los ácidos

nucleicos de los microorganismos sin hacer distinción de su estado fisiológico. Durante mucho tiempo se empleó naranja de acridina (AO), sin embargo las observaciones al microscopio presentaban un exceso de partículas de fondo que ocasionaba una sobreestimación del número de bacterias. El 4',6-Diamidino-2-Phenylindole (DAPI) reemplazó rápidamente al AO por ofrecer un mejor contraste y porque las muestras así teñidas se podían conservar hasta 24 semanas en refrigeración (Atlas y Bartha, 2002; Mauclaire *et al.*, 2004). Asimismo, para cuantificar los roles bacterianos se requieren medidas precisas de sus parámetros, como abundancia y biomasa (Kuwaie y Hosokawa, 1999; Bratbak y Dundas, 1984).

Por otro lado, los sedimentos marinos juegan un rol muy importante en el reciclaje biogeoquímico global de los elementos (Parkes *et al.*, 1990). El reciclado de los nutrientes minerales es muy lento en el ambiente pelágico. Los organismos muertos de la zona eufótica se hunden hasta alcanzar los sedimentos. Estos cadáveres arrastran consigo nutrientes esenciales, lo que hace que la concentración de la materia orgánica en sedimentos sea unas  $10^4$  -  $10^5$  veces mayor que en la columna de agua. Los microorganismos presentes en los sedimentos superficiales utilizan esta materia orgánica como sustrato, por lo que la mayor parte de la actividad bacteriana se encuentra concentrada en los primeros centímetros del sedimento, dando lugar a la realización de los ciclos biogeoquímicos y, con estos, a procesos diagenéticos y a la remineralización de nutrientes que se almacenan en las aguas profundas, los cuales se pensaban en un inicio, eran realizados por procesos exclusivamente químicos (Parkes *et al.*, 1990; Pantoja, 2006).

Una vez remineralizados, los nutrientes vuelven a la superficie del agua mediante procesos de difusión y de advección (p. ej. afloramiento costero). En general, la

productividad primaria en la zona eufótica del ambiente pelágico está limitada por la falta de nutrientes minerales, mientras que las aguas profundas, ricas en nutrientes, carecen de energía luminosa que permita la realización de la fotosíntesis. Como resultado, más del 95% del mar se caracteriza por una tasa de productividad extremadamente baja (Atlas y Bartha, 2002). Las zonas de afloramiento son excepciones a esta condición, ya que los nutrientes son rápidamente advectados a la superficie desde la capa subsuperficial, rica en nutrientes. Prácticamente toda la pesca comercial marítima está restringida a regiones costeras y zonas de afloramiento (Atlas y Bartha, 2002; Levin, 2003) y las costas del Perú es una de ellas (Cabrera *et al.*, 2005).

El Callao se encuentra en la costa central peruana, cuyo sistema marino está caracterizado por la ocurrencia de eventos de afloramiento. Es uno de los sistemas más productivos, con una gran cantidad de materia orgánica (MO) que sedimenta en los fondos marinos (Bertrand *et al.*, 2008). Es importante conocer la abundancia y tasas de actividad bacteriana que ocurre en los sedimentos, ya que éstas están relacionadas con las tasas de remineralización de nutrientes (Fenchel *et al.*, 1988), que junto con los fenómenos de afloramiento que ocurren en el área de estudio (Zuta y Guillen, 1970), son claves de su alta productividad, la cual es importante para la actividad económica pesquera de nuestro país (Bakun y Weeks, 2008; Cabrera *et al.*, 2005). Además, la actividad bacteriana en sedimentos determina hasta qué punto la materia orgánica es degradada o preservada, por lo que también tiene un profundo efecto en la formación de fósiles y petróleo (Parkes *et al.*, 1990).

Debido a su alta productividad, Callao presenta una Zona Mínima de Oxígeno (ZMO) muy intensa (Gutierrez *et al.*, 2008). Entre 20 a 40 % de la pérdida del nitrógeno

oceánico ocurre en las ZMOs y es producto de la actividad microbiana (Lam *et al.*, 2009). Entre los productos de esta desnitrificación encontramos al óxido nitroso ( $N_2O$ ), gas invernadero que está envuelto en el ciclo del ozono en la estratósfera (Bange *et al.*, 2005). Por otro lado, encontramos la presencia de diversas corrientes marinas, como la Corriente Peruana y la Corriente Sub-superficial Peruano-Chilena (Zuta y Guillen, 1970), así como variaciones de oscilación a causa del fenómeno de El Niño, que ocasiona cambios en el ecosistema bentónico (Arntz *et al.*, 2006).

A pesar de su importancia, en el Perú se ha realizado pocos estudios sobre el rol ecológico de los microorganismos presentes en sedimentos marinos y no se tiene información clara sobre sus características: distribución, diversidad, densidad poblacional, biomasa, ni tampoco de cómo los factores ambientales las afectan. De igual manera, la importancia de la actividad bacteriana en el mantenimiento de la productividad del sistema marino peruano no ha sido estudiada en detalle. El presente trabajo busca aportar conocimientos sobre la microbiología de sedimentos marinos en nuestras costas, mediante la estimación de la abundancia y biomasa bacteriana y sus fluctuaciones respecto a parámetros oceanográficos y sedimentarios en un estudio bimensual durante el año 2007 en 3 estaciones frente al Callao.



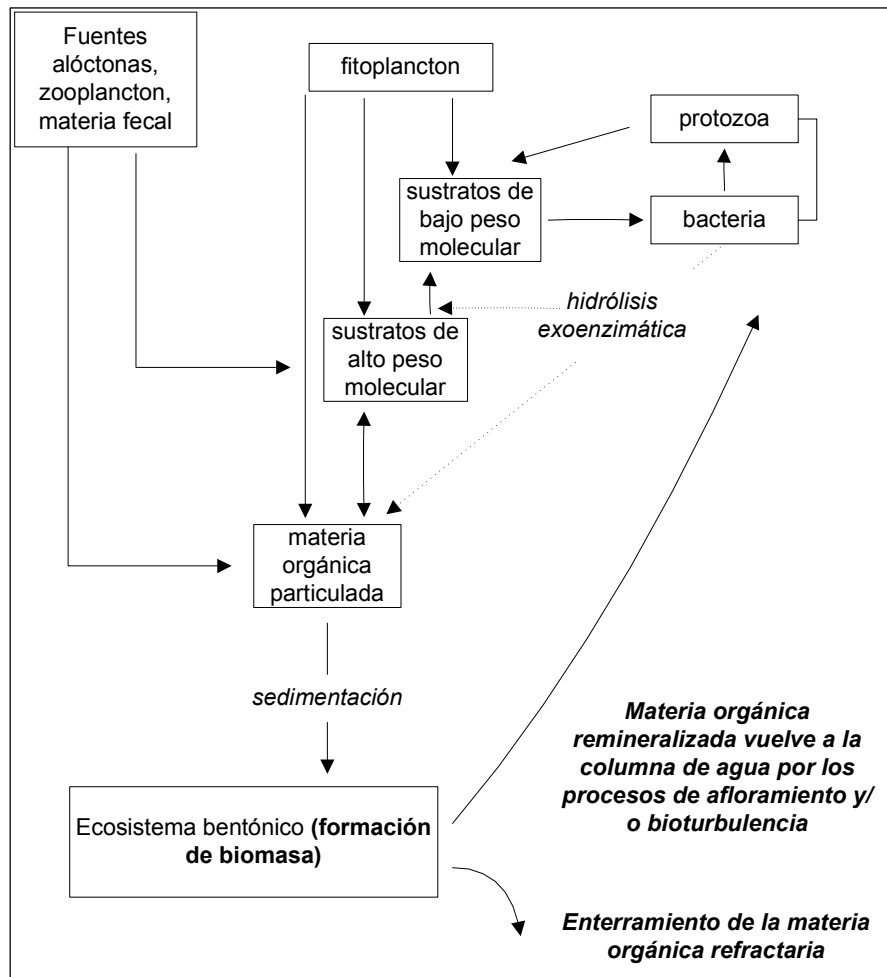
## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Remineralización de la materia orgánica en sedimentos marinos**

#### **2.1.1. Metabolismo bacteriano**

Las bacterias tienen la capacidad de realizar cualquier medio concebible de vivir que sea acorde con las leyes de la termodinámica (Madigan *et al.*, 2003). Esta amplia diversidad metabólica les permite desarrollarse en ambientes deficientes de oxígeno e incluso anóxicos, como el que se encuentra en los sedimentos marinos, convirtiéndolas en el grupo más competitivo y con mayor proporción de biomasa en estos ambientes (Fenchel *et al.*, 1988).

Según el tipo de carbono asimilado, existen microorganismos heterótrofos, autótrofos y mixótrofos en los sedimentos marinos. El metabolismo heterótrofo predomina en estos ambientes; las bacterias mineralizan los productos de la producción primaria (carbono orgánico) y los reciclan hacia los fotoautótrofos (Figura 1). Los microorganismos quimiolitóautótrofos representan un tipo de autotrofía, sin embargo, en última instancia dependen de la fotoautotrofía para abastecerse de compuestos reducidos, como  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{HS}^-$ ,  $\text{H}_2$  y  $\text{CH}_4$ , a través de los procesos heterótrofos (Tabla 1). Por último, los mixótrofos tienen la capacidad de fijar carbono inorgánico pero necesitan sustancias orgánicas (ricas en N y P) para realizar su metabolismo biosintético (Fenchel *et al.*, 1988).



**Figura 1.** Flujo del carbono microbiano en el ecosistema marino, el fitoplancton y los protozoos son canalizados hacia las cadenas alimenticias zooplanctónicas. La materia orgánica particulada constituye la base para las cadenas bentónicas, en donde pasa a formar biomasa, es remineralizada hacia la columna de agua, y parte es enterrada en los fondos marinos. (Gráfico realizado a partir de Fenchel *et al.*, 1988, y modificado con información obtenida en Atlas y Bartha, 2002; y Canfield *et al.*, 2005).

**Tabla 1.** Procesos catabólicos quimiotróficos (disimilativos) mediados por microorganismos. Fuente: Canfield *et al.*, 2005.

Aceptor de electrones	Donador de electrones							
	H <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> O	CH <sub>4</sub>	HS	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	N <sub>2</sub>	NO <sub>2</sub>	Fe <sup>2+</sup>
CH <sub>2</sub> O	1	1	-	-	-	-	-	-
CO <sub>2</sub>	2	2	-	-	-	-	-	-
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	3	3	3	-	-	-	-	-
Fe <sup>3+</sup>	4	4	4	9	-	-	-	-
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	5	5	5	9	11	-	-	-
MN <sup>4+</sup>	6	6	6	9	12	-	-	-
O <sub>2</sub>	7	7	7	9	10	-	10	8

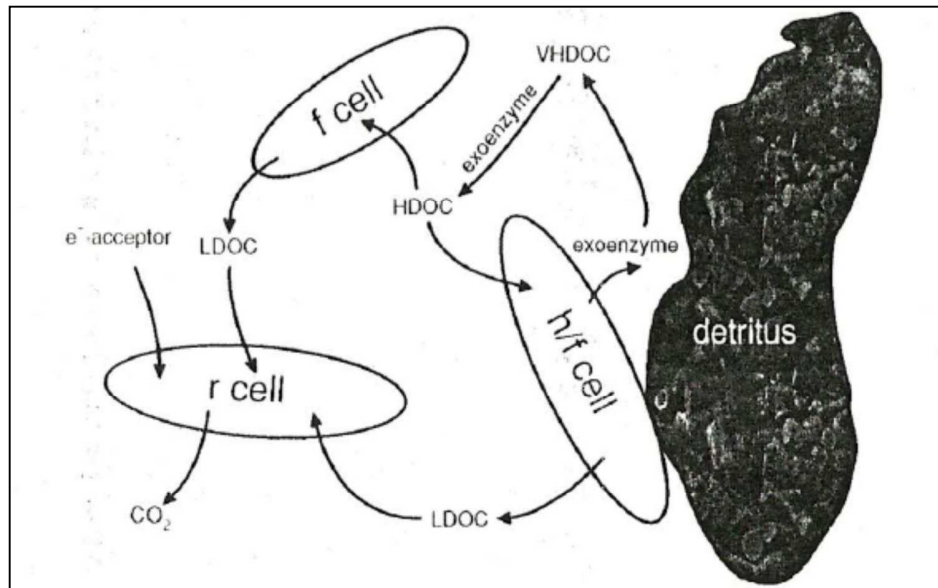
1, Fermentación; 2, metanogénesis; 3, sulfatoreducción; 4, reducción del hierro; 5, desnitrificación; 6, reducción del manganeso; 7, respiración aeróbica; 8, oxidación del hierro; 9, oxidación del sulfuro; 10, nitrificación; 11, anammox; 12, nitrificación anóxica.

Según el requerimiento de oxígeno, se presentan microorganismos que realizan la oxidación del carbono orgánico de forma aeróbica y anaeróbica. Dentro del grupo de las que realizan oxidación aeróbica, tenemos a los aerobios estrictos, que son capaces de usar sólo el oxígeno como aceptor final de electrones; los aerobios facultativos, que en ausencia de oxígeno pueden realizar una vía fermentativa o la de desnitrificación; y los microaerófilos, que se desarrollan únicamente con bajas concentraciones de oxígeno (Madigan *et al.*, 2003).

Algunos de los productos de la respiración aeróbica son el anión de superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y radicales hidroxilo (-OH), que tienen la capacidad de romper enlaces de compuestos orgánicos refractarios, promoviendo la descomposición aeróbica. Varios factores determinan la realización de la oxidación aeróbica, entre ellas el ratio de ingreso de carbono orgánico, la composición de la materia orgánica, tamaño de partículas, tasa de sedimentación, profundidad de la

columna de agua, temperatura y la estratificación del oxígeno en el sedimento (Canfield *et al.*, 2005).

Por otro lado, la oxidación anaeróbica del carbono se realiza por un consorcio mutualista de microorganismos, ya que ningún tipo de microorganismo anaerobio por sí solo es capaz de realizar la oxidación de la materia orgánica de forma completa. Para que esto ocurra, se pueden distinguir 3 actividades metabólicas: hidrólisis, fermentación y respiración anaeróbica. Para que la materia orgánica pueda empezar a ser mineralizada, primero es hidrolizada con enzimas excretadas por microorganismos hidrolíticos/fermentadores, obteniéndose polímeros de menor tamaño, ya que los procariotas sólo pueden transportar moléculas hasta de 600 Da a través de sus membranas (Figura 2). Una vez reducidas en tamaño, estas moléculas son empleadas por otros microorganismos hidrolíticos y/o fermentadores y por los respiradores anaeróbicos (Canfield *et al.*, 2005).



**Figura 2.** Consorcio microbiano de degradadores de materia orgánica. Organismos hidrolíticos/fermentativos (h/f cell) se unen a las partículas y excretan exoenzimas. El carbono orgánico de muy alto peso molecular (VHDOC) liberado de la hidrólisis inicial es luego hidrolizado por exoenzimas, formándose carbono orgánico de alto peso molecular (HDOC). Las moléculas de HDOC son lo suficientemente pequeñas para ser asimiladas por los microorganismos fermentadores (f cell), que liberan carbono orgánico de bajo peso molecular (LDOC). Procariotas capaces de respirar anaeróbicamente (r cell) pueden realizar la oxidación final de LDOC a CO<sub>2</sub> empleando varios aceptores de electrones. Fuente: Canfield *et al.*, 2005.

Los microorganismos que realizan respiración anaeróbica completan la oxidación de la materia orgánica formando H<sub>2</sub>O y CO<sub>2</sub> empleando diferentes compuestos inorgánicos (diferentes al oxígeno) como aceptores finales de electrones. El orden típico del uso de estos aceptores de electrones en el sedimento obedece a consideraciones termodinámicas (en orden decreciente de ganancia de energía libre, ver Tabla 2); nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), óxidos de manganeso (MnO<sub>2</sub>), óxidos de hierro (FeOOH), sulfatos

(SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) y CO<sub>2</sub>, formando una zonación de acuerdo a la profundidad del sedimento. Sin embargo, este orden puede variar según el pH y la concentración de reactantes en el sedimento. Además, debemos tener en cuenta que estas reacciones no son mutuamente excluyentes, así, podemos encontrar bacterias reductoras del sulfato coexistiendo con metanógenas (Canfield *et al.*, 2005).

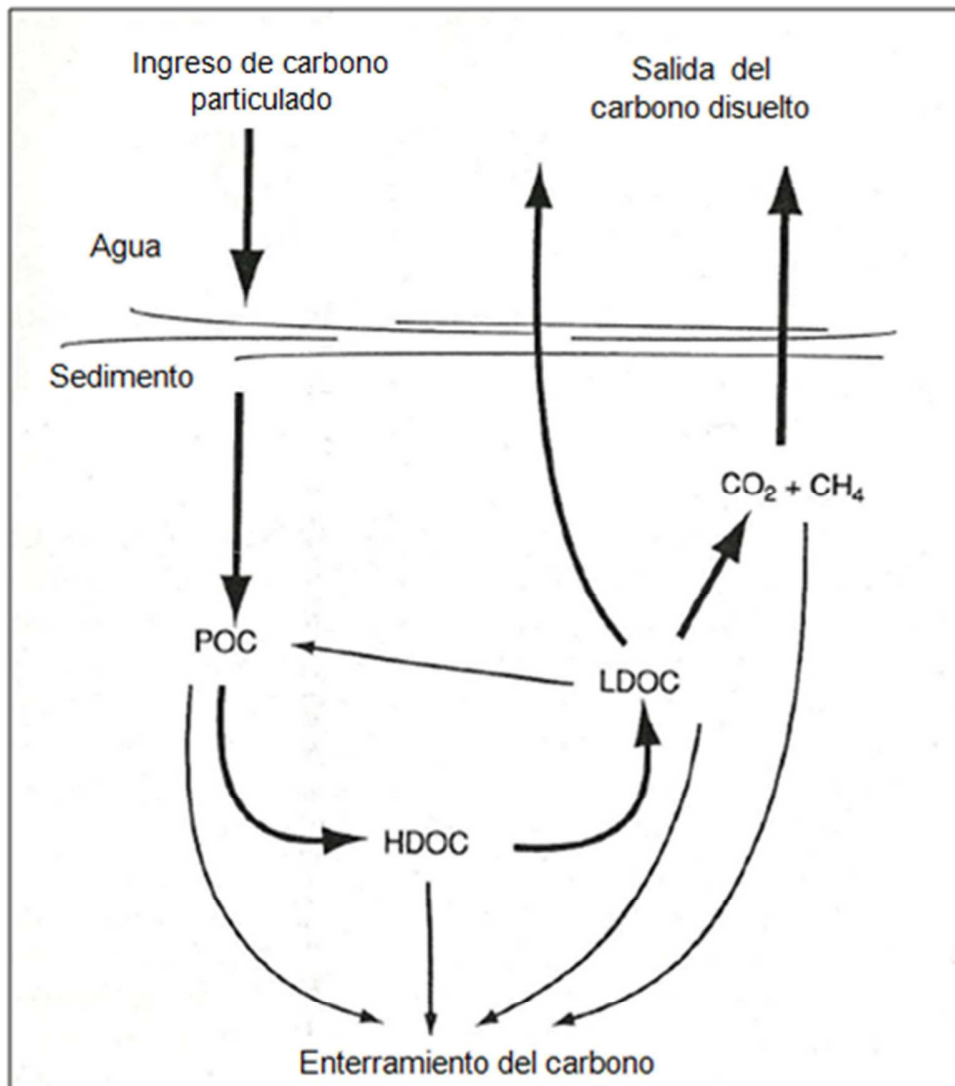
**Tabla 2.** Energía libre de Gibbs estándar calculada para las principales vías respiratorias en la remineralización de la materia orgánica en la naturaleza, con H<sub>2</sub> y acetato como donadores de electrones. Fuente: Canfield *et al.*, 2005.

Reacción	kJ por reacción	
	$\Delta G^0$ (H <sub>2</sub> )	$\Delta G^0$ (acetato) <sup>a</sup>
Respiración óxica		
O <sub>2</sub> + 2H <sub>2</sub> → 2H <sub>2</sub> O	-456	-
O <sub>2</sub> + 1/2C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> <sup>-</sup> → HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + 1/2H <sup>+</sup>	-	-402
Desnitrificación		
4/5H <sup>+</sup> + 4/5NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + 2H <sub>2</sub> → 2/5N <sub>2</sub> + 12/5H <sub>2</sub> O	-460	-
4/5NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + 3/5H <sup>+</sup> + 1/2C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> <sup>-</sup> → 2/5N <sub>2</sub> + HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + 1/5H <sub>2</sub> O	-	-359
Reducción del manganeso		
4H <sup>+</sup> + 2MnO <sub>2</sub> + 2H <sub>2</sub> → 2Mn <sup>2+</sup> + 4H <sub>2</sub> O	-440	-
7/2H <sup>+</sup> + 2MnO <sub>2</sub> + 1/2C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> <sup>-</sup> → 2Mn <sup>2+</sup> + HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + 2H <sub>2</sub> O	-	-385
Reducción del hierro (FeOOH precipitado amorfo fresco)		
8H <sup>+</sup> + 4FeOOH + 2H <sub>2</sub> → 4Fe <sup>2+</sup> + 8H <sub>2</sub> O	-296	-
15/2H <sup>+</sup> + 4FeOOH + 1/2C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> <sup>-</sup> → HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + 4Fe <sup>2+</sup> + 6H <sub>2</sub> O	-	-241
Sulfato reducción		
H <sup>+</sup> + 1/2SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> + 2H <sub>2</sub> → 2H <sub>2</sub> O + 1/2H <sub>2</sub> S	-98.8	-
1/2H <sup>+</sup> + 1/2SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> + 1/2C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> <sup>-</sup> → 1/2H <sub>2</sub> S + HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-	-43.8
Metanogenesis		
1/2H <sup>+</sup> + 1/2HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> + 2H <sub>2</sub> → H <sub>4</sub> + 3/2H <sub>2</sub> O	-74.8	-
1/2H <sub>2</sub> O + 1/2C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> <sup>-</sup> → CH <sub>4</sub> + 1/2HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-	-19.9

<sup>a</sup> Valores estandarizados para La transferencia de 4 electrones equivalentes a La oxidación de un mol de carbono orgánico con carga 0, como en un carbohidrato. Condiciones de medición: 25 °C p para todos los reactantes y productos.

### **2.1.2. Remineralización de la materia orgánica e influencia del oxígeno en sedimentos marinos**

El carbono inorgánico pasa a formar biomasa a través de la fijación de carbono realizada por organismos autótrofos. Gran parte de esta producción no es consumida ni asimilada por animales, en lugar de eso se transforma en materia orgánica muerta (detritos orgánicos). Así, los detritos consisten en material vegetal, heces de la macrofauna, caparazones, exuvios, y células microbianas muertas. En el océano abierto, como es el caso para este estudio, la principal fuente de detritos es la producción fitoplanctónica, mientras que en zonas costeras y poco profundas es la producción de macroalgas y plantas vasculares. Al no ser consumidos, estos detritos se depositan en los sedimentos marinos, en donde gracias a la actividad microbiana son convertidos de vuelta a carbono inorgánico a través de dos pasos: la hidrólisis/fermentación y la subsecuente mineralización realizada por organismos heterótrofos (Canfield *et al.*, 2005). Ver Figura 3.

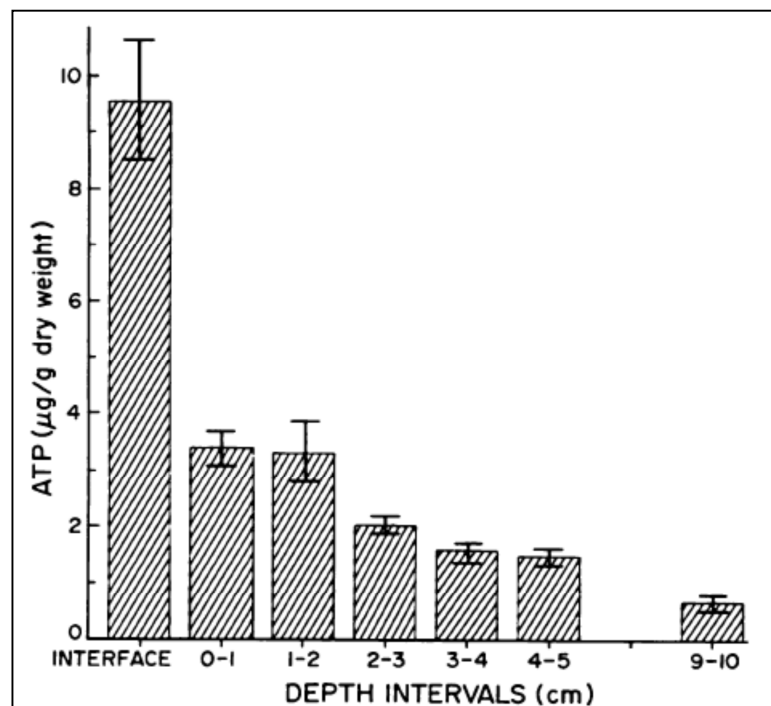


**Figura 3.** Representación esquemática de las transformaciones de la materia orgánica en sedimentos. El grosor de las flechas indica la proporción del rol en el proceso. POC, carbono orgánico particulado; HDOC, carbono orgánico disuelto de alto peso molecular; LDOC, carbono orgánico disuelto de bajo peso molecular. Fuente: Canfield *et al.*, 2005.



Sin embargo, no toda la materia orgánica presente en sedimentos está disponible para la descomposición biológica, ya sea por su estructura química refractaria o por las condiciones ambientales no favorables para la actividad microbiana. El carbono que no es mineralizado será enterrado permanentemente en sedimentos profundos, y luego del tiempo suficiente (millones de años) terminará como fósiles orgánicos en roca sedimentaria, hidrocarburos fósiles y gas natural (Fenchel *et al.*, 1988).

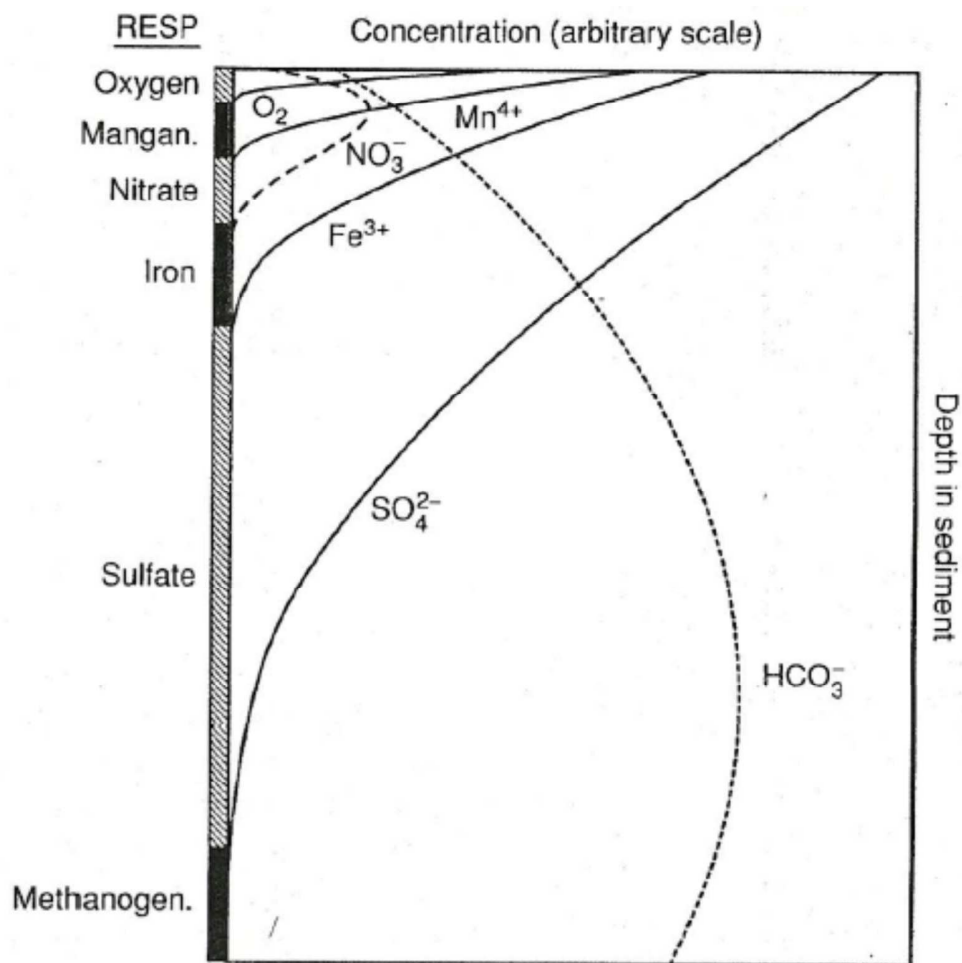
Como la mayor parte de materia orgánica se encuentra en la interfase agua-sedimento, los microorganismos ahí presentes disponen de mayor cantidad de nutrientes que aquellos que se encuentran a mayor profundidad (Novitsky, 1987). Así, se ha encontrado que en los primeros centímetros de sedimento los microorganismos son relativamente abundantes ( $10^7$ - $10^8$ /g), pero su número va disminuyendo en las capas más profundas (Figura 4), sin embargo la razón principal parece ser el agotamiento de los nutrientes disponibles, más que las condiciones de anoxia (Atlas y Bartha, 2002).



**Figura 4.** Biomasa microbiana según el contenido de ATP en sedimentos marinos de *Halifax Harbor*. Se observa el mayor contenido de ATP en la superficie del sedimento, el cual presenta la mayor abundancia y biomasa microbianas. Fuente: Novitsky, 1987.

Así, los microorganismos juegan un rol preponderante en la remineralización de la materia orgánica en sedimentos marinos. No sólo hidrolizan una gran diversidad de compuestos, algunos de los cuales son completamente indigeribles por otros organismos, sino que también soportan otras poblaciones con las que coexisten en los sedimentos, lo que da paso a una nueva producción de materia orgánica. Así, la meiofauna aprovecha los nutrientes liberados por la actividad enzimática microbiana e ingiere partículas detríticas que contienen microorganismos de los cuales se alimentan. Tanto la macrofauna, meiofauna y microorganismos reingresan al *pool*

detrítico susceptible de ser degradado (Fenchel *et al.*, 1988). La eficiencia de la incorporación a la biomasa dependerá de la calidad de los nutrientes (detritos) y de la presencia o ausencia de aceptores de electrones (Figura 5).



**Figura 5.** Distribución vertical idealizada de aceptores de electrones en sedimentos marinos. La barra en el lado izquierdo indica la distribución vertical de las vías de respiración. Fuente: Canfield *et al.*, 2005

El sedimento superficial tiene una concentración relativamente alta de  $O_2$ , de  $NO_3^-$  y de  $Fe(III)$ , y baja de  $CO_2$ . Estos valores cambian ligeramente por debajo de la superficie a medida que el sedimento pasa desde una zona oxidada hasta otra reducida (Figura 5). Estas alteraciones químicas están relacionadas con el cambio de las condiciones aeróbicas a anaeróbicas conforme aumenta la profundidad. Una vez que el oxígeno es consumido por completo en la superficie, aparecen bacterias capaces de emplear otros compuestos químicos como aceptores de electrones, dando paso a procesos como la desnitrificación ( $NO_3^-$ ), reducción del sulfato ( $SO_4$ ), reducción del Fe ( $FeOOH$ ) y Mn ( $MnO_2$ ) y la metanogénesis ( $HCO_3^-$ ) (Canfield *et al.*, 2005).

Las alteraciones químicas que ocurren debajo de la superficie del sedimento están relacionadas con el cambio de las condiciones aeróbicas a anaeróbicas, conforme aumenta la profundidad (Fenchel *et al.*, 1988). Energéticamente, la respiración óxica es la más favorable para la mineralización del carbono orgánico, ya que proporciona la mayor cantidad de energía libre, mientras que la metanogénesis, es la menos favorable (Tabla 2). Esto coincide con la distribución de la utilización de aceptores de electrones que hay en los sedimentos (Figura 5), en donde primero ocurre la respiración óxica en la superficie del sedimento hasta llegar a la metanogénesis a medida que se agotan los otros aceptores de electrones (Canfield *et al.*, 2005). Es así que bajo la superficie de los sedimentos, los microorganismos autóctonos son las bacterias anaerobias, tales como especies del género *Desulfovibrio*, que reducen el sulfato a sulfuro de hidrógeno, mientras que los metanógenos anaerobios aparecen en el sedimento por debajo de la capa de sulfato (Atlas y Bartha, 2002).

Por otro lado, el potencial redox ( $E_h$ ) está muy influenciado por la presencia o la ausencia de oxígeno molecular. En los sedimentos, los valores de  $E_h$  generalmente

son negativos, lo que puede deberse a un crecimiento extensivo de microorganismos heterótrofos que agotan todo el oxígeno disponible. Los sedimentos ricos en materia orgánica pueden tener valores  $E_h$  tan bajos como -450 mV. A esos valores, puede producirse fácilmente la reducción del sulfato, con producción de  $H_2S$ , y la reducción del  $CO_2$ , con producción de  $CH_4$  (Atlas y Bartha, 2002).

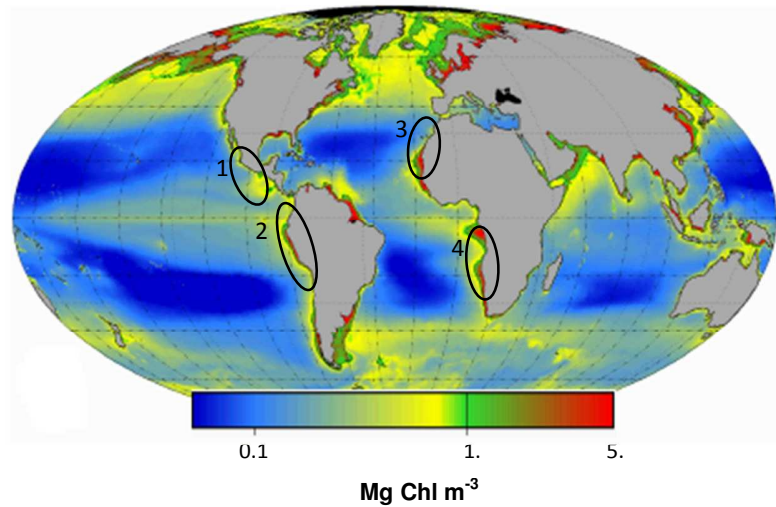
## **2.2. Factores ambientales en el área de estudio**

El área de estudio se encuentra frente al Callao y es una zona caracterizada por la ocurrencia de afloramientos (Figura 6), la formación de una ZMO (Figura 7), los fenómenos ENSO (Figura 8), y la influencia de la Corriente Subsuperficial Perú –Chile (Levin, 2003; Zuta y Guillen, 1970; Pacific Marine Environmental Laboratory, 2010). Estas condiciones ejercen influencia en la cantidad de oxígeno disuelto, densidad y temperatura, lo que determina variaciones en la productividad primaria y, por consiguiente, en la cantidad de materia orgánica sintetizada en la columna de agua y en la tasa de sedimentación (Morales *et al.*, 1996). De esta manera, tanto factores oceanográficos y sedimentarios afectan el desarrollo y estructura de diferentes comunidades bentónicas (Arntz *et al.*, 2006).

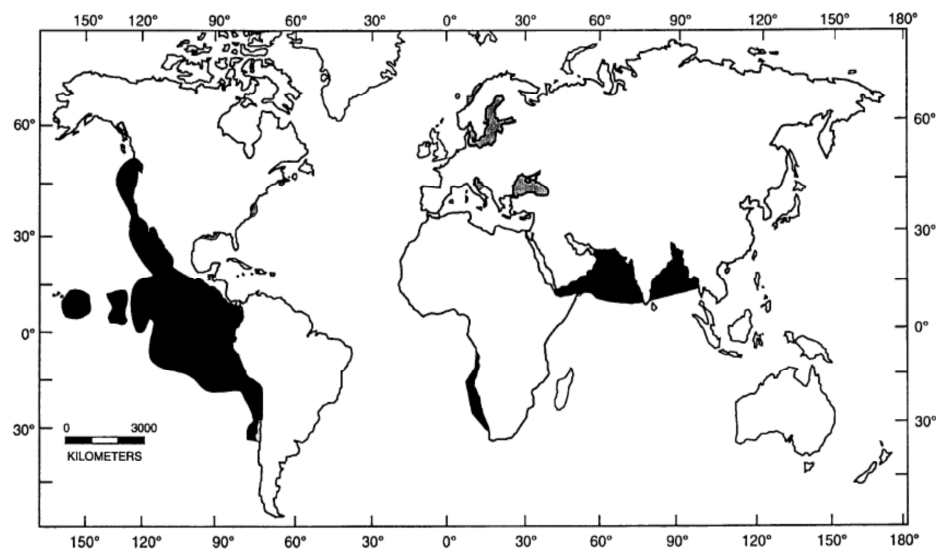
Existen numerosos trabajos sobre la relación de estas condiciones y la respuesta de bacterias gigantes de sedimentos, tales como *Thioploca* sp. y *Beggiatoa* sp.. Por ejemplo, se sabe que ante condiciones bajas de oxígeno disuelto hay una gran abundancia de estas bacterias, posiblemente debido a la disponibilidad de grandes cantidades de nutrientes y reducción de macrofauna depredadora (Levin *et al.*, 2002). Esto se debe a que estas bacterias, denominadas bacterias del azufre, oxidan el

sulfuro de hidrógeno ( $H_2S$ ) que se produce en condiciones hipóxicas, teniendo así la capacidad de desintoxicar la superficie de sedimentos y facilitar la vida de organismos aeróbicos con los que cohabitan en estos ambientes (Arntz *et al.*, 2006).

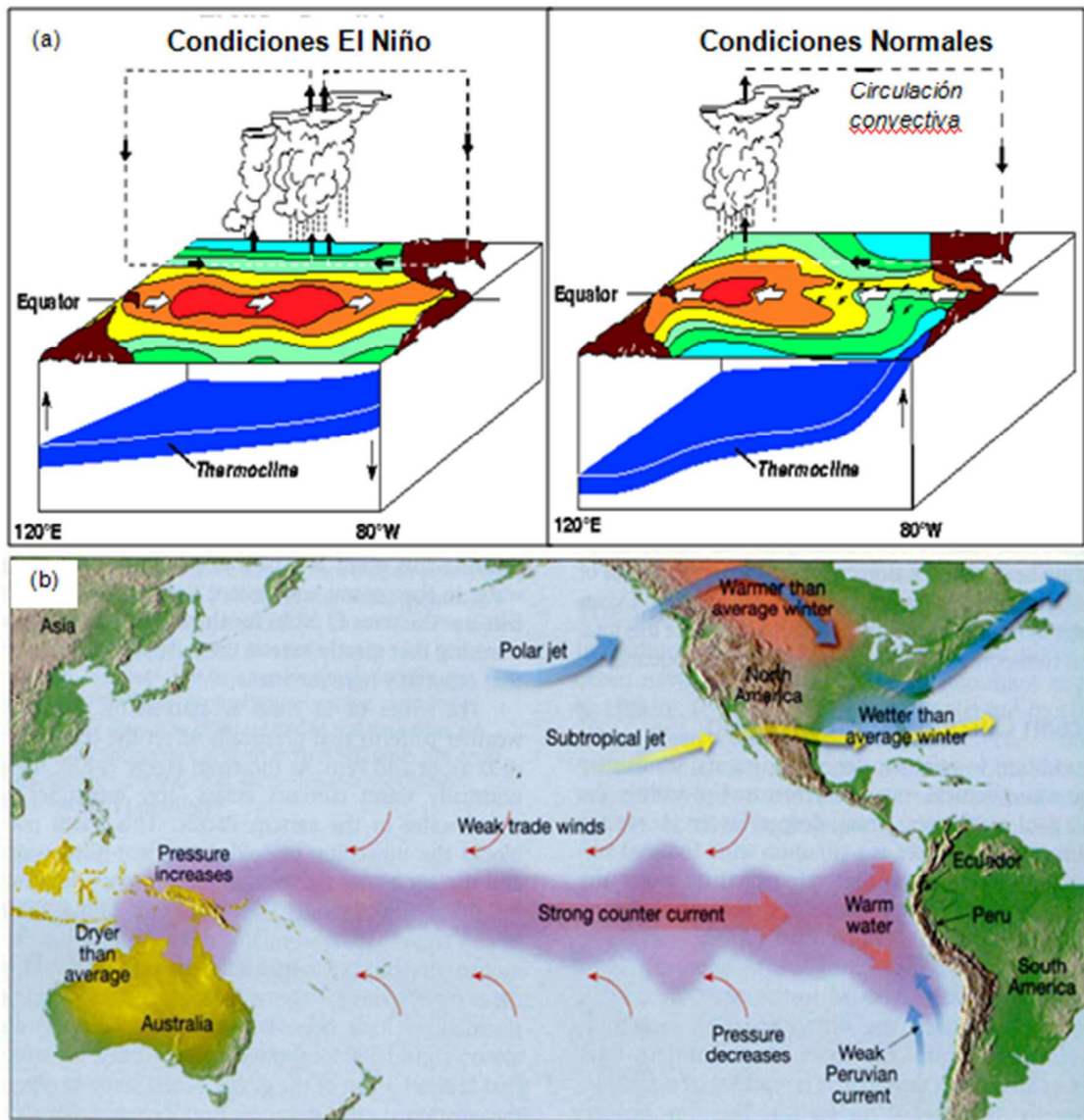
Sin embargo, se tiene muy poca información sobre los otros tipos de microorganismos que existen en estos ambientes y el rol ecológico que estarían desempeñando. Menos aún se sabe que efectos tienen los cambios de las diferentes condiciones ambientales sobre los parámetros de abundancia, biomasa y diversidad de estos microorganismos. Por otro lado, durante el tiempo de estudio, es decir entre los años 2006/2007 ocurrió un evento El Niño débil de corta duración que empezó a colapsar a comienzos del 2007 y evolucionó rápidamente hacia características de un evento La Niña (Wolter, 2009).



**Figura 6.** Concentración de clorofila *a* obtenido del SeaWiFS entre 1998 y 2007. Áreas de Afloramiento señalados en los círculos. 1) Corriente de California. 2) C. de Humboldt. 3) C. de Canarias. 4) C. Benguela. Los afloramientos ocurren cuando el viento empuja las aguas de la superficie, y las aguas subsuperficiales ascienden, reemplazándolas. Estas aguas subsuperficiales son más frías, ricas en nutrientes y productivas. Por ello, las áreas con mayor productividad pesquera se encuentran frecuentemente en áreas de afloramiento. Fuente: Modificado de Demarcq (2009).



**Figura 7.** Distribución de las ZMOs en el mundo. Aguas abiertas con mínima de oxígeno se muestran en negro. Fuente: Levin, 2003.



**Figura 8.** (a) Eventos ENSO. En condiciones normales los vientos alisios circulan de este a oeste. Suramérica presenta temperaturas frías y las aguas profundas afloran, enriqueciendo el ecosistema marino. En condiciones ENSO, los vientos alisios se debilitan o dejan de soplar, produciéndose un movimiento de agua superficial caliente hacia el este a lo largo del ecuador. Fuente: Pacific Marine Environmental Laboratory, 2010. (b) Vista geográfica del comportamiento del evento ENSO. Como consecuencia de este evento las aguas superficiales del Pacífico Central y el Pacífico Este se calientan, con fuertes consecuencias en los patrones climáticos. Fuente: Madl, 2000.



### **2.3. Técnicas de recuento y de estimación de biomasa bacteriana**

Hasta hace poco más de 50 años, los métodos convencionales para estimar el número de microorganismos vivos se basaba en su capacidad de crecer en medios de cultivo (Bianchi y Giuliano, 1996). Sin embargo, estudios han revelado que los microorganismos presentes en muestras ambientales tienen la capacidad de entrar en un estado conocido como viable pero no cultivable, en el cual los microorganismos son viables, se encuentran metabólicamente activos pero no son capaces de desarrollarse ni de formar colonias en medios de cultivo convencionales. Las bacterias que se encuentran en este estado son denominadas BVNC (Sardessai, 2005).

De esta manera, el número de microorganismos estimado con técnicas de recuento en placa no alcanza a representar ni el 1% del total de microorganismos presentes en la muestra (Pace, 1996). Para el caso de ambientes marinos, esta discrepancia se puede deber a la variedad de requerimientos fisiológicos y ambientales de los microorganismos marinos, así como a la dificultad de trabajar con medios no selectivos (Bianchi y Giuliano, 1996), por lo que es más conveniente emplear técnicas de recuento directo.

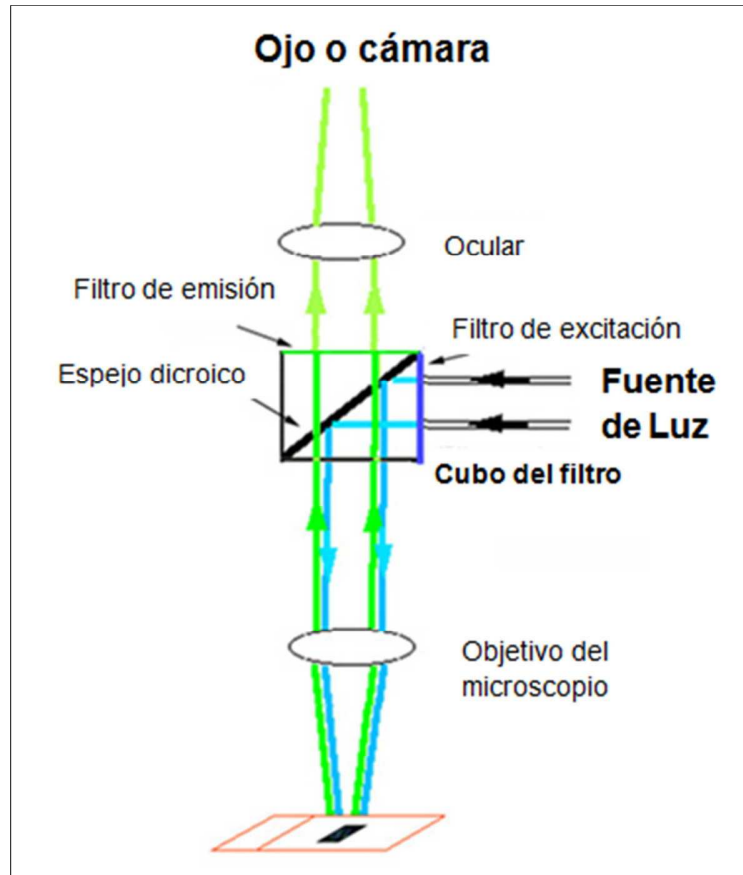
Una de estas técnicas es la microscopía de epifluorescencia, muy usada para estudios de ecología microbiana y ampliamente aceptada para el recuento de bacterias totales en sedimento. Entre sus ventajas encontramos que los recuentos obtenidos suelen ser unas cien veces mayores que los obtenidos con cultivos (Mauclaire *et al.*, 2004) y que puede aplicarse a diferentes tipos de hábitat sin las desviaciones propias del recuento de viables en placa (Tabla 3). Entre sus desventajas tenemos que las muestras, una vez procesadas para su observación, no pueden ser empleadas para estudios

posteriores (Atlas y Bartha, 2002) y que algunas bacterias son demasiado pequeñas, tanto que no contienen suficiente ADN para ser visibles en el microscopio (Bianchi y Giuliano, 1996) a pesar de la sensibilidad que esta técnica ofrece.

**Tabla 3.** Comparación de recuento directo con epifluorescencia y recuento de viables en placa (número por gramo). Fuente: Atlas y Bartha, 2002.

Muestra	Suelo		Agua marina	
	R. Directo	R. Viables	R. Directo	R. Viables
A	5,0 x 10 E8	3,1 x 10 E7	2,2 x 10 E3	1,3 x 10 E1
B	1,1 x 10 E9	6,2 x 10 E7	8,2 x 10 E4	7,6 x 10 E2
C	2,0 x 10 E9	1,7 x 10 E8	1,3 x 10 E6	2,1 x 10 E4

La fluorescencia ocurre cuando una sustancia absorbe luz de una longitud de onda específica y, simultáneamente, re-emite parte de esta energía a una longitud de onda mayor, usualmente en el rango visible del espectro (Figura 9). Así, la fluorescencia emitida se debe a las características de absorción del espécimen en estudio (por ejemplo, porfirinas que se encuentran de manera natural en los tejidos); sin embargo, en muchas de las investigaciones de ecología microbiana se han empleado tinciones en donde la fluorescencia depende de las propiedades de absorción del complejo célula-fluorocromo (Young, 1961).



**Figura 9.** Ilustración de la ruta que sigue la luz en un microscopio de epifluorescencia. La luz es primero dirigida a través de un filtro de excitación y luego es reflejada por el espejo dicroico hacia la muestra. Ésta emite una longitud de onda mayor a la que recibe, que pasa a través del espejo dicroico. Las ondas no deseadas son retenidas en el filtro de emisión para que no afecten al observador. Luego la señal puede ser analizada con la vista o con la ayuda de una cámara. (Schwarzacher y Heslop-Harrison, 2000).

La técnica de recuento con epifluorescencia consiste en teñir a los microorganismos con un fluorocromo antes de aplicar la muestra sobre un filtro (Mauclair *et al.*, 1998).

Los fluorocromos más empleados para la tinción de ácidos nucleicos son DAPI, naranja de acridina (AO), y bromuro de etidio, que los hacen fluorecer bajo la excitación con luz ultravioleta (Atlas y Bartha, 2002, Chambers, 1996), (Tabla 4).

**Tabla 4.** Fluorocromos para ácido nucleicos. Los picos de longitud de onda de excitación y emisión pueden variar dependiendo del ambiente en el que se encuentren. Fuente: Chambers, 1996.

Fluorocromo	$\lambda$ Excitación (nm)	$\lambda$ Emisión (nm)	Peso molecular (g/mol)	Características
DAPI	345	455	350.3	AT selectivo
Naranja de acridina	503	530-640	370	ADN/ARN
Bromuro de etidio	493	620	394	ADN/ARN
Hoechst 33342	343	483	616	AT selectivo
Hoechst 33258	345	478	624	AT selectivo
Cromomicina A3	445	575	1183.2	CG selectivo
Ioduro de propidio	536	617	668.4	ADN/ARN

La naranja de acridina (AO) fue uno de los primeros fluorocromos que se usó para estudios de microorganismos en ambientes marinos. AO se liga al ADN, ARN, proteínas y pared celular. Bajo excitación con una longitud de onda de 503 nm, AO permite que el ADN emita fluorescencia roja o verde (dependiendo de su estado fisiológico), y que el ARN, proteínas y pared celular emitan fluorescencia roja (Darzynkiewicz, 1990), lo que ocasiona demasiada interferencia en muestras ricas en partículas (Mauclaire *et al.*, 2004). Así, las arcillas, coloides y detritos presentes en estas muestras producen una coloración de fondo anaranjado que dificulta el recuento con AO, ocasionando errores de sobreestimación. La fluorescencia roja ocurrirá en células metabólicamente activas, que estén sintetizando proteínas, y la verde, en células inactivas (Atlas y Bartha, 2002).

Por otro lado, el fluorocromo DAPI reemplazó rápidamente el uso de AO porque ofrece un mayor contraste durante las observaciones debido a su especificidad por el ADN. DAPI se une a los dímeros de Adenina-Timina, permitiendo que el ADN emita fluorescencia azul bajo una excitación de longitud de onda de 345 nm (Serrano, 2003). Sin embargo, aún empleando DAPI, se presentan problemas debido a la autofluorescencia de partículas de fondo, que es más intensa que la fluorescencia emitida por bacterias y enmascara su presencia, lo que ocasiona que se estime un número de bacterias menor al real.

Para superar estas dificultades técnicas, Kuwae y Hosokawa (1999) proponen emplear la técnica de doble tinción con DAPI y AO. De esta manera, sólo las bacterias se observan azules, y las partículas acompañantes quedan enmascaradas con AO, obteniéndose un contraste adecuado para el recuento directo y para medir las imágenes de células, datos con los que se puede estimar la biomasa bacteriana. Ellos también señalan que se debe hacer una adecuada dispersión de la muestra, debido a que las bacterias se encuentran adheridas a las partículas de sedimento (Alongi, 1988). Así, ensayaron diferentes tiempos y técnicas de dispersión y observaron que empleando un sonicador el número de bacterias se incrementaba a mayor tiempo de dispersión hasta hacerse constante, mientras que, empleando un homogenizador, el mayor número de bacterias se observó con los tiempos de tratamiento más cortos, a mayor tiempo, el número disminuyó, indicando la destrucción celular.

La biomasa es otra variable ecológica importante, pues representa la cantidad de energía almacenada por un segmento particular de la comunidad biológica. Se emplea para determinar la producción de una población y la transferencia de energía entre los diferentes niveles tróficos. La medición directa de biomasa bacteriana por

determinación de peso seco que se utiliza en cultivos puros no es aplicable para muestras ambientales. Esta técnica también mide las partículas presentes en la muestra y biomasa no bacteriana, por lo que es imprecisa. Sin embargo, existen técnicas que nos permiten estimar la biomasa en base a la presencia de compuestos bioquímicos y a la estimación del biovolumen y recuento bacteriano (Atlas y Bartha, 2002).

Si se elige estimar la biomasa bacteriana midiendo la presencia de compuestos bioquímicos hay que tener en cuenta que estos se deben encontrar de manera uniforme y exclusiva en todos los microorganismos de la muestra condiciones que raramente se cumplen. Así por ejemplo, Novitsky (1987) estimó la biomasa bacteriana en sedimentos marinos mediante la medición del contenido de ATP y concentraciones de ADN. Como estos, se puede emplear también las concentraciones de componentes de pared celular como el ácido murámico, y el análisis de fosfolípidos unidos a ácidos grasos (Atlas y Bartha, 2002).

La otra forma de estimar la biomasa bacteriana, expresada en gramos de carbono, es usando los datos de recuento y biovolumen bacteriano de la muestra. El biovolumen se puede obtener a partir de microfotografías de las observaciones en el microscopio, midiendo cada célula con ayuda de programas de análisis de imágenes. Además, Bratbak y Dundas (1984) proponen que el factor de conversión adecuado para pasar los datos de biovolumen y recuento a biomasa es de 0,22, el cual ha sido empleado en diferentes trabajos (Serrano, 2003; Sestanovic, 2005).

## 2.4. Antecedentes

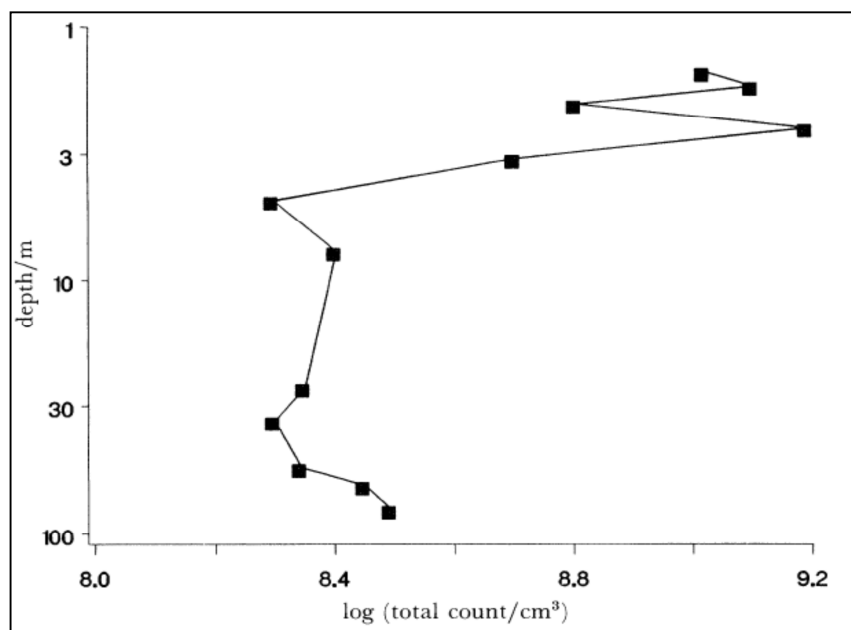
La importancia del estudio de bacterias presentes en sedimentos marinos ha sido ampliamente reconocida. Juegan un rol importante en los ciclos biogeoquímicos de los elementos (Figura 1) y son fuente de alimento para los organismos bentónicos micrófagos (Alongi, 1988; Atlas y Bartha, 2002; Kuwae y Hosokawa, 1999). Por ello se necesitan técnicas exactas para cuantificarlas y medir sus parámetros.

Serrano (2003), usó la técnica de epifluorescencia con DAPI para el análisis de muestras de agua de la Bahía de Ferrol en Chimbote, Perú. En su trabajo, encontró una relación directamente proporcional entre las concentraciones de materia orgánica y los valores de abundancia, biomasa y volumen bacteriano en las aguas. Aunque no hace diferencia entre la materia orgánica de origen fitoplanctónico y la de origen antropogénico que es depositada en esta Bahía, se esperaría encontrar una distribución similar de las bacterias en sedimentos respecto a la materia orgánica.

La estimación de las concentraciones de clorofila a (chl a) y feopigmentos se ha venido empleando en varios trabajos como indicador de la concentración de materia orgánica de origen fitoplanctónico en el sedimento. Esto es en base a que hay estudios que demuestran que la chl a y la proporción chl a / COT están bien correlacionadas con el H<sub>2</sub>S presente en el agua intersticial del sedimento, el cual se forma por la reducción del sulfato, que a su vez es la principal vía de degradación de materia orgánica en sedimentos. Así, estos parámetros son buenos indicadores de la materia orgánica fresca y altamente reactiva (Gutiérrez *et al.*, 2000).

Parkes *et al.* (1990) estudiaron la distribución de la biomasa y actividad bacteriana en 80 m de profundidad del sedimento frente a la costa peruana. Encontraron bacterias

en todas las profundidades muestreadas. El número de bacterias disminuyó con la profundidad, sin embargo no observaron una aceleración de esta disminución en las capas más profundas, por lo que señalan que deben encontrarse bacterias incluso a mayor profundidad (Figura 10). Además, encontraron que un número significativo de bacterias dentro del sedimento se encontraban en división y por tanto estaban activas, y no sólo en estado de dormancia.



**Figura 10.** Número de bacterias totales en sedimentos marinos frente a la costa peruana, obtenido mediante recuento directo con naranja de acridina. Fuente: Parkes *et al.*, 1990.

Sestanovic *et al.* (2005) hicieron un estudio temporal de las dinámicas bacterianas en el Mar Adriático. Sus resultados muestran que la abundancia microbiana en los sedimentos se incrementa en temporadas cálidas. Esto sucede porque durante este periodo ocurre un incremento en la productividad y en la concentración de clorofila *a*



en la columna de agua, así como en las tasas de sedimentación, lo que hace que el número de bacterias presentes en el sedimento también aumente. Respecto al biovolumen, la temperatura no fue un factor que determinara variaciones en este parámetro, sin embargo, se registró un pico leve durante uno de los meses de invierno, debido a la presencia de *Beggiatoa*. Asimismo, se observó que las fluctuaciones del biovolumen bacteriano eran mayores durante el invierno que durante el verano. En el mismo mes, se registró un pico en los valores de biomasa. Aunque la abundancia fue menor que la observada en los meses de verano, el aumento del número de bacterias filamentosas determinó una mayor biomasa. Los autores, junto con otros, sugieren que la temperatura actúa en simultáneo con otros factores (cantidad y calidad de nutrientes orgánicos, actividad fitoplanctónica y flagelados depredadores) en el control de la dinámica bacteriana. A pesar que este estudio es uno de los más completos, carece en relacionar la densidad poblacional con las profundidades del sedimento y con factores físico-químicos como el  $E_h$  y la concentración de oxígeno.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo general**

Determinar la densidad poblacional y la biomasa bacteriana bentónicas y establecer su relación con los factores oceanográficos y sedimentarios frente al Callao, durante el año 2007.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Calcular la densidad bacteriana total en muestras de sedimentos marinos usando técnicas de epifluorescencia.
- Determinar el biovolumen y biomasa promedio de bacterias en sedimentos a partir de mediciones de las células usando imágenes digitalizadas.
- Correlacionar densidad, biovolumen y biomasa bacteriana con la concentración de clorofila a (indicador de materia orgánica de origen fitoplanctónico).
- Correlacionar la densidad, biovolumen y biomasa bacteriana con los factores sedimentarios ( $E_h$  y COT) en los puntos de muestreo.
- Correlacionar la densidad, biovolumen y biomasa bacteriana con los factores oceanográficos (oxígeno, temperatura y salinidad) en los puntos de muestreo.

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

### 4.1. Área de estudio

El área de estudio se encuentra frente al margen continental del Callao (Figura 12). Las tres estaciones de estudio corresponden a un transecto perpendicular a la costa, cada una con diferente profundidad: estación 1: 12°01,887' S; 77°13,240' W, con una profundidad de 48 m. Estación 2: 12°02,852' S; 77°16,997' W, con una profundidad de 93 m. Estación 4: 12° 02,919' S; 77° 29,091' W, con una profundidad de 143 m (Tabla 5). El área de estudio se encuentra en uno de los mayores centros de afloramiento del litoral peruano y se caracteriza por una alta producción biológica y la presencia de una gruesa, somera e intensa ZMO comparada a otras áreas costeras frente a Perú. En esta zona, las principales fuentes de oxígeno disuelto son la Corriente Subsuperficial Perú –Chile y la difusión turbulenta de las aguas superficiales, mientras que el mayor consumo se produce por la alta demanda respiratoria de la materia orgánica (Gutierrez *et al.*, 2008; Morales *et al.*, 1996).

Bajo las fases neutra o negativa del ciclo ENSO, el margen continental superior en esta área está sometido a aguas de la ZMO. Sin embargo, esta condición se puede alterar por la propagación de ondas atrapadas provenientes del norte, las cuales producen significativos cambios en la dinámica de la circulación subsuperficial y en la estructura vertical de la temperatura y del oxígeno disuelto en la columna de agua (Gutierrez *et al.*, 2005).

## 4.2. Colección de muestras

### 4.2.1. Agua de fondo

Se obtuvieron muestras de agua a profundidades de 48, 93 y 143 m, empleando botellas Niskin para hacer estimaciones de los contenidos de oxígeno y salinidad.

### 4.2.2. Sedimento

Se tomaron muestras de sedimentos no perturbados, empleando un mini-multisacatestigos de 4 tubos Oktopus (Figura 13), para análisis de clorofila a, COT,  $E_h$ , y bacterias. Se realizaron 3 lances independientes, con los que se obtuvieron tres réplicas de cada muestra para los análisis de clorofila y bacterias. Una vez obtenidos los tubos con sedimento se seccionaron en 4 perfiles según su profundidad: nivel I (0-1 cm); nivel II (1-2 cm); nivel III (2-5 cm); y nivel IV (5-10 cm), como se muestra en el Figura 11.



**Figura 11.** Seccionamiento del sedimento contenido en el tubo, según su profundidad.

Las muestras destinadas a la estimación de clorofila fueron colectadas en papel aluminio y congeladas inmediatamente a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Las muestras para cuantificación de bacterias se colectaron en tubos *Eppendorf* de 1,5 ml de capacidad; se tomó  $0,5\text{ cm}^3$  de sedimento y se fijó inmediatamente con 1ml de solución buffer formalina libre de partículas a una concentración final de 6,6%. Una vez fijadas, las muestras fueron conservadas en refrigeración a  $4^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su análisis.

#### **4.3. Procesamiento de las muestras**

##### **4.3.1. Determinación de los parámetros oceanográficos y sedimentarios**

Los datos de los parámetros oceanográficos y sedimentarios fueron proporcionados por los laboratorios de Geología, Química y Bentos Marino del Instituto del Mar del Perú. A continuación se muestra la metodología empleada para estimar cada parámetro.

- a. **Temperatura y salinidad:** se obtuvieron en cada muestreo, mediante el lanzamiento de un CTD SBE *SeaBird Electronics*, INC modelo ST 2.OK LV, con un sensor de la misma marca modelo 19-01 3400m (Holme y McIntyre, 1971).
- b. **Oxígeno disuelto:** Los contenidos de oxígeno disuelto se estimaron según el método de Winkler modificado por Carpenter (1965).
- c. **Potencial redox ( $E_h$ ):** se realizó con un potenciómetro Mettler Toledo Modelo MA130 y un electrodo Mettler Toledo InLab Modelo InLab 501 Redox.
- d. **Clorofila a:** Se realizó con el método de extracción con acetona descrito por Gutiérrez *et al.* (2000). Las muestras se descongelaron antes de la extracción. Se mezcló de 0,2 a 0,3 g de sedimento con 5 ml de acetona al 90% en un agitador vórtex,

luego se sonicó por 10 minutos y después se centrifugó a 3000 rpm por 5 minutos, repitiéndose el procedimiento dos veces. El extracto se analizó con un fluorómetro para obtener la concentración de clorofila a.

e. **Carbono orgánico total:** las estimaciones se realizaron siguiendo el método volumétrico de Walkley & Black (1934) modificado por Gaudette *et al.* (1974). Se obtuvieron mediante la oxidación del C con un volúmen conocido de dicromato de potasio, seguida de titulación del exceso de dicromato con solución de amonio ferroso.

#### **4.3.2. Determinación de la densidad bacteriana**

Se empleó la técnica de doble tinción debido al alto contraste que ofrece en la observación de las muestras, lo que facilitó el recuento y la toma de imágenes digitales que fueron posteriormente analizadas para estimar el biovolumen y biomasa microbianos.

Las muestras se diluyeron hasta una concentración final de 1:3000 con solución buffer fosfato (PBS). Para una distribución homogénea de bacterias y partículas, la muestra se sometió a sonicación y las diluciones a una homogenización mecánica empleando jeringas con agujas de tipo tuberculina y vórtex. Así obtenidas, se tiñeron con DAPI (500 µg/ml) por 10 minutos, y Naranja de Acridina (50 mg/ml) por 5 minutos (Figura 15). Una vez teñidas, se filtró 100 µl de cada dilución por una membrana de policarbonato de 0,2 µm de porosidad, de tal modo, que las bacterias quedaron retenidas en la membrana (Figura 16). Posteriormente, se montaron con aceite de inmersión en una lámina portaobjeto para su observación con el microscopio de epifluorescencia, empleando un objetivo de 100X (Kuwaie y Hosokawa, 1999), Figura 17.

Se realizaron conteos del número de bacterias presentes en cada muestra. Se analizaron 20 campos escogidos de forma aleatoria en cada membrana y se contaron las bacterias dentro de una cuadrícula de 10 x 10 µm. El recuento promedio obtenido se reemplazó en la Fórmula 1, para finalmente obtener el número de bacterias presentes en cada cm<sup>3</sup>.

Fórmula 1. Cálculo de la densidad microbiana (cel./cm<sup>3</sup>)

$$\text{Densidad microbiana (cel./cm}^3\text{)} = \frac{N \times C \times F}{V}$$

Donde: N = Número promedio de células por campo

C = Número de campos por área de filtro

F = Factor de dilución

V = Volumen filtrado

#### **4.3.3. Determinación del biovolumen y biomasa bacteriana**

Para determinar los biovolúmenes, se prepararon muestras menos diluidas (1:300) para tener un mayor número de células en cada membrana. Luego, se tomaron fotografías digitales y se midieron 200 células de cada nivel muestreado, de las cuales se calculó el área y el ancho de cada célula empleando el programa Scion Image V.1.0. El cálculo de biovolumen promedio se realizó empleando el volumen de cada célula, usando la fórmula recomendada por Kuwae y Hosokawa, 1999 (Fórmula 2).

Fórmula 2. Cálculo del biovolumen microbiano ( $\mu\text{m}^3/\text{cel.}$ )

$$V = \pi w A / 4 + \pi w^3 / 6 - \pi^2 w^3 / 16$$

Donde:  $V$  = Biovolumen de cada célula en  $\mu\text{m}^3$

$A$  = Área celular

$w$  = Ancho celular

La biomasa se determinó en gramos de carbono, usando los datos de densidad y biovolumen, empleando un factor de conversión de  $220 \text{ fgC}\mu\text{m}^{-3}$ , determinado por Bratbak y Dundas, 1984 (Fórmula 3).

Fórmula 3. Cálculo de la biomasa microbiana ( $\text{gC}/\text{cm}^3$ )

$$\text{Biomasa} = \text{Densidad} \times \text{Biovolumen} \times \frac{220 \text{ fgC}}{\mu\text{m}^3} \times \frac{1 \text{ g}}{10^{15} \text{ fg}}$$

#### 4.4. Tratamiento estadístico

Se colectaron 3 réplicas de cada nivel a fin de poder obtener un promedio y su desviación estándar. De igual manera, se tomaron las medidas de 200 células escogidas de forma aleatoria. El cálculo de los valores totales (valores integrados para cada estación) de las variables densidad microbiana, biomasa y clorofila se realizó ponderando el valor obtenido en cada nivel por el número de centímetros de profundidad de sedimento correspondiente, así por ejemplo:



*Valor integrado para la Densidad Microbiana en la Estación 1 = Densidad microbiana del Nivel 1 x 1) + (Densidad microbiana del Nivel 2 x 1) + (Densidad microbiana del Nivel 3 x 3) + (Densidad del Nivel 4 x 5).*

Para el cálculo de la desviación estándar de los valores integrados de densidad microbiana, biomasa y clorofila se tomó en cuenta la propagación de errores ocasionada por la suma de ponderados, utilizando la siguiente fórmula (Bevington y Robinson, 1992):

$$\Delta Y = \sqrt{\Delta X_1^2 + \Delta X_2^2}$$

En donde  $Y = X_1 + X_2$

Para todas las variables se realizaron pruebas de normalidad de Kolmogorov-Smirnov, y Shapiro-Wilk, y según este resultado se aplicó la correlación de Spearman y Pearson entre las variables microbianas y los factores oceanográficos y sedimentarios.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Análisis descriptivo de las variables microbianas

Se calculó la media y la desviación estándar de las variables microbianas para las estaciones 1, 2 y 4 durante el año 2007.

Los valores integrados de densidad y biomasa microbiana se muestran en la Tabla 6, y se encuentran graficados en la Figura 18 y 19, respectivamente.

El valor más alto de densidad microbiana integrada se encontró en el mes de abril en la estación 2 ( $2,41 \pm 0,10 \times 10^{11}$  cel./cm<sup>2</sup>), mientras que el menor valor se encontró en el mes de diciembre en la estación 4 ( $4,61 \pm 0,37 \times 10^{10}$  cel./cm<sup>2</sup>).

Los valores de biomasa integrada fueron mayores en los meses de febrero y abril, siendo febrero el mes en el que se encontró el mayor de estos en la estación 4 ( $14639,45 \pm 2134,72$  µgC/cm<sup>2</sup>), mientras que el menor valor se registró en la misma estación en el mes de diciembre ( $976,11 \pm 75,12$  µgC/cm<sup>2</sup>).

Los valores de las variables microbianas encontrados en cada nivel se muestran en la Tabla 7, y se encuentran graficados en las Figuras 13, 14 y 15 para las estaciones 1, 2 y 4, respectivamente. Estos resultados muestran consistencia con los valores integrados hallados en cada estación; así, en general para todos los niveles, los valores mayores se encontraron en los meses de febrero y abril.

En la estación 1 los valores de densidad microbiana oscilaron entre  $4,47 \pm 0,17 \times 10^9$  cel./cm<sup>3</sup> (nivel 4 en octubre) y  $2,83 \pm 0,12 \times 10^{10}$  cel./cm<sup>3</sup> (nivel 2 en abril). En la estación 2, estos valores oscilaron entre  $5,20 \pm 0,93 \times 10^9$  cel./cm<sup>3</sup> (nivel 4 en octubre) y  $3,06 \pm 0,37 \times 10^{10}$  cel./cm<sup>3</sup> (nivel 2 en abril). En la estación 4, oscilaron entre  $4,35 \pm 0,72 \times 10^9$  cel./cm<sup>3</sup> (nivel 4 en diciembre) y  $2,27 \pm 0,16 \times 10^{10}$  cel./cm<sup>3</sup> (nivel 2 en febrero).

Respecto al biovolumen el mayor valor se registró en el nivel 2 de la estación 4 en el mes de abril ( $0,51 \pm 0,44 \mu\text{m}^3$ ), mientras que el menor valor se encontró en el nivel 3 de la estación 2 en el mes de junio ( $0,06 \pm 0,06 \mu\text{m}^3$ ).

Respecto a la biomasa, en la estación 1 los valores oscilaron entre  $119,93 \pm 9,69 \mu\text{gC/cm}^3$  (nivel 4 en junio) y  $851,47 \pm 60,23 \mu\text{gC/cm}^3$  (nivel 1 en febrero). En la estación 2 la biomasa osciló entre  $87,82 \pm 7,04 \mu\text{gC/cm}^3$  (nivel 4 en agosto) y  $1086,42 \pm 131,55 \mu\text{gC/cm}^3$  (nivel 2 en abril). En la estación 4, osciló entre  $79,73 \pm 12,83 \mu\text{gC/cm}^3$  (nivel 4 en agosto) y  $2527,93 \pm 176,89 \mu\text{gC/cm}^3$  (nivel 2 en febrero).

En general, estos resultados muestran gran variabilidad en los meses de febrero y abril, en los cuales se encontró los mayores valores de desviación estándar para las variables microbianas en estudio; el resto de meses son más bien menores y uniformes. Asimismo, durante la colección de las muestras se observó que la capa de interfase entre la columna de agua y sedimento fue mayor durante los meses de febrero y abril, lo que pudo contribuir en esta observación de los resultados descriptivos.

## **5.2. Análisis de correlación entre las variables microbianas y los factores oceanográficos y sedimentarios**

La Tabla 8 muestra los valores de los parámetros oceanográficos oxígeno ( $\text{mL.L}^{-1}$ ), temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) y salinidad (UPS) obtenidos en el agua sobre la superficie del sedimento de cada estación. La Tabla 9 muestra los valores de los parámetros sedimentarios potencial redox (mV), carbono orgánico total (COT%) y clorofila ( $\mu\text{Chla}/\text{cm}^3$ ) obtenidos en el nivel 1, es decir en el primer centímetro de profundidad del sedimento. Por fines comparativos, los valores de clorofila en cada nivel se muestran en las mismas tablas que las variables microbianas.

Para determinar la correlación entre las variables microbianas y los parámetros de estudio se realizó pruebas de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk y se hicieron correlaciones de Pearson y Spearman según la normalidad de la muestra.

Primero se buscó si los parámetros oceanográficos y sedimentarios guardaban alguna relación con las variables microbianas, independientemente de la estación o mes de colecta, por lo que se trabajó con todos los datos del nivel 1. Tanto los parámetros oceanográficos como los sedimentarios presentaron una distribución no normal ( $p < 0,05$ ) por lo que se realizaron correlaciones de Spearman. Es así, que no se encontró relación alguna entre las variables microbianas con el oxígeno ( $p > 0,05$ ). Las variables densidad y biomasa sí presentaron relación positiva significativa con la temperatura y salinidad ( $p < 0,01$ ) como se muestra en la Tabla 10; en la Figura 23 se muestra el gráfico de dispersión de estos puntos. De la misma manera, se buscó una relación con los parámetros sedimentarios, y no se encontró relación entre las

variables microbianas con el potencial redox ni con clorofila, sólo se encontró que la densidad y biomasa tienen una correlación negativa significativa con el carbono orgánico total ( $p < 0,01$ ) como se muestra en la Tabla 11, en la Figura 24 se muestra el gráfico de dispersión de estos puntos.

También se buscó una correlación con clorofila trabajando con todos los datos disponibles de todos los niveles, estaciones y meses de estudio y sólo se encontró que guardaba una relación positiva significativa con el biovolumen ( $p < 0,01$ ) como se muestra en la Tabla 12. Los gráficos de dispersión de estos puntos se muestran en la Figura 25.

Luego se buscó correlaciones dentro de cada estación, trabajando únicamente con los datos del nivel 1. Como se muestra en la Tabla 13, 15 y 17, se realizó una transformación logarítmica a los datos de las variables microbianas para obtener una distribución normal ( $p > 0,05$ ) en todas las estaciones y se aplicó correlaciones de Pearson.

Para la estación 1, la temperatura presentó una relación positiva significativa ( $p < 0,05$ ) con las variables densidad ( $R^2 = 0,71$ ) y biomasa ( $R^2 = 0,68$ ), mientras que el carbono orgánico total presentó una relación negativa significativa ( $p < 0,05$ ) con estos mismos parámetros, obteniéndose un  $R^2 = 0,88$  para la densidad y un  $R^2 = 0,84$  para la biomasa. Estos resultados se muestran en la Tabla 14 y se encuentran graficados en las Figuras 26 y 27.

Para la estación 2, la densidad presentó una correlación positiva significativa ( $p < 0,05$ ) con la temperatura ( $R^2 = 0,72$ ) y salinidad ( $R^2 = 0,72$ ); al igual que la biomasa, que presentó un  $R^2 = 0,70$  con la temperatura y un  $R^2 = 0,69$  con la salinidad. La correlación negativa significativa ( $p < 0,05$ ) con el carbono orgánico total mostró un  $R^2 = 0,68$  con la densidad y un  $R^2 = 0,82$  con la biomasa). Estos resultados se muestran en la Tabla 16 y en las Figuras 28 y 29.

Para la estación 4, la correlación positiva significativa ( $p < 0,05$ ) de la densidad y la temperatura mostró un  $R^2 = 0,70$ , mientras que con la salinidad, fue  $R^2 = 0,66$ . La biomasa presentó un  $R^2 = 0,76$  con la temperatura, y un  $R^2 = 0,68$  con la salinidad, como se muestra en la Tabla 18(a) y en la Figura 30. En el caso del carbono orgánico total se obtuvo un  $R^2 = 0,84$  con la densidad, y un  $R^2 = 0,85$  con la biomasa, en ambos casos con una pendiente negativa como se muestra en la Figura 31, sin embargo esta correlación no es significativa puesto que presenta  $p > 0,05$  para ambos casos, como se presenta en la Tabla 18(b). No se realizó pruebas de correlación con el potencial redox en esta estación porque no había datos suficientes para hacerlo. Es probable que no se haya alcanzado una relación negativa significativa con el carbono orgánico total debido a la escasa cantidad de datos con los que se realizó la prueba.

Posteriormente se correlacionó las variables microbianas con la clorofila, trabajando con datos de los cuatro niveles de estudio dentro de cada estación. Como se puede ver en la Tabla 19(a) la prueba de normalidad arrojó un  $p < 0,05$  por lo que se procedió a realizar correlaciones de Spearman, cuyos resultados se muestran en la Tabla 19(b). Se encontraron correlaciones positivas significativas entre el biovolumen y clorofila ( $p < 0,01$ ) y entre biomasa y clorofila ( $p < 0,05$ ) en la estación 1, mientras que

para las otras dos estaciones no se encontró correlación. La Figura 32 muestra la dispersión entre las variables microbianas y la clorofila en cada estación.

Aunque no se encontró correlación alguna entre las variables microbianas y el oxígeno, podemos señalar que este último alcanzó concentraciones más altas en el mes de abril en la estación 1 ( $0,10 \text{ mL.L}^{-1}$ ) y en la estación 2 ( $0,09 \text{ mL.L}^{-1}$ ), lo que coincide con los picos de densidad microbiana en los niveles más superficiales (1 y 2) y con los picos de densidad microbiana integrada que se registraron en estas estaciones durante dicho mes.

Finalmente, se realizaron pruebas de comparación de las variables microbianas según su profundidad en el sedimento y según su profundidad oceánica.

De esta manera, se aplicó la prueba de U Mann Whitney para comparar valores entre el nivel 1 y el nivel 4 de cada estación. En la estación 1 se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,01$ ) para el biovolumen y para biomasa. En la estación 2 sólo se encontró diferencia significativa para biovolumen; mientras que para la estación 4, las variables no fueron diferentes significativamente entre el nivel 1 y el nivel 4 ( $p > 0,05$ ). Los resultados de esta prueba se encuentran resumidos en la Tabla 20. Los gráficos de dispersión de las variables microbianas según el nivel en que fueron encontradas se muestran en la Figura 33, 34 y 35 para las estaciones 1, 2 y 4, respectivamente.

Para comparar los valores de las variables microbianas según la profundidad oceánica en la que se encuentra cada estación se utilizó la prueba e Kruskal Wallis y se trabajó sólo con datos del nivel 1 y con los valores integrados.

Los valores superficiales mostraron diferencias significativas sólo para el biovolumen ( $p < 0,01$ ), como se muestra en la Tabla 21, y de los rangos promedio podríamos decir que en la estación 1 (de menor profundidad) el biovolumen de las células en la superficie fue mayor que en las otras 2 estaciones. El gráfico de dispersión de la densidad según su profundidad en el nivel 1 se muestra en la Figura 36, mientras que los de biovolumen y biomasa se encuentran en la Figura 37.

La comparación con los valores integrados se muestra en la Tabla 22, y no se encontró ninguna diferencia significativa entre las estaciones ( $p > 0,05$ ). La Figura 38 muestra la dispersión de los valores integrados de densidad y biomasa según la profundidad en la que se encontraron.



## 6. DISCUSIÓN

### 6.1. Densidad microbiana

Dado que el sistema marino costero del Perú presenta una alta productividad, se esperaba encontrar una abundancia mayor a la reportada en otras áreas de estudio. De esta manera, los valores de densidad microbiana variaron entre  $4,35 \times 10^9$  y  $3,06 \times 10^{10}$  cel./cm<sup>3</sup> y, conforme con lo esperado, son mayores a los reportados en otras áreas, incluyendo el Mar Árabe, en donde se reporta una abundancia de 0,6 a  $4,0 \times 10^9$  cel./cm<sup>3</sup> para profundidades oceánicas de 1920 – 4420 m (Boetius & Lochte, 2000). En general, la abundancia microbiana oscila entre  $10^9$  cel./cm<sup>3</sup> en la superficie hasta  $10^5$  -  $10^6$  cel./cm<sup>3</sup> en profundidad; sin embargo, los valores de orden  $10^{10}$  aquí reportados concuerdan con el pico excepcional de abundancia microbiana señalado por Jorgensen *et al.* (2006) para la interfase sulfato/metano encontrada en los sedimentos frente a la costa peruana (ODP Leg 201, Sitio 1229, 10°58,60'S; 77°57,46W).

Los valores del orden de  $10^9$  cel./cm<sup>3</sup> son ligeramente mayores a los reportados por Parkes *et al.* en 1990 y en el 2000 para los sedimentos frente a la costa peruana (ODP Leg 201, Sitio 1229); sin embargo la metodología de muestreo de ambos trabajos difiere con la empleada para este estudio, ya que estos consideran un rango más amplio de profundidad en el sedimento para hacer las estimaciones. Así, en el trabajo de 1990, Parkes *et al.* encontraron una densidad máxima de  $1,05 \times 10^9$  cel./cm<sup>3</sup> dentro de los primeros 1,5 m de profundidad de sedimento; mientras que en el trabajo del 2000 la densidad fue de  $4,00 \times 10^9$  cel./cm<sup>3</sup> en el primer metro de profundidad. El hecho que en el presente trabajo sólo se haya considerado los primeros 10 centímetros de la superficie del sedimento explicaría la diferencia en los resultados, ya

que teóricamente, a mayor profundidad en el sedimento, el número de bacterias disminuye debido a la limitación de nutrientes (Parkes *et al.*, 1994; Jorgensen *et al.*, 2006).

El estudio realizado por Deming y Carpenter (2008) reporta la abundancia bacteriana en el Golfo de México. Allí, ellos estudiaron los primeros 15 cm de sedimento a una profundidad oceánica entre 212 y 3732 m, encontrando un valor mínimo de  $1,00 \times 10^8$  y uno máximo de  $1,89 \times 10^9$  cel./cm<sup>3</sup>, los cuales son menores a los encontrados en este trabajo para los sedimentos frente al Callao. Asimismo, encontraron una función de potencia entre la densidad microbiana y la profundidad en el sedimento, y, aunque débil, esta relación se fortaleció en las estaciones en donde la penetración del oxígeno estuvo limitada a unos pocos centímetros, es decir, en las estaciones de menor profundidad, mientras que en las estaciones de áreas abisales, en donde el oxígeno tuvo una penetración de hasta 10 centímetros, los perfiles para densidad microbiana fueron relativamente constantes. Al realizar el mismo análisis en la Figuras 33A, 34A y 35A para las estaciones 1, 2 y 4, respectivamente, no se obtiene relación potencial ni lineal ( $R_p^2 = 0,0138$  y  $R^2 = 0,0099$ , respectivamente), por lo que no son comparables; sin embargo cabe mencionar que en el trabajo de Deming y Carpenter se estimó la abundancia para los intervalos puntuales de 0-1, 4-5, 9-10 y 14-15 cm de profundidad. Debido a la mayor cantidad de materia orgánica fresca en la superficie del sedimento, se espera que en los primeros centímetros haya un pico de abundancia microbiana (Atlas y Bartha, 2002; Parkes, 1990; Novitsky, 1987) y que este valor disminuya con la profundidad. De esta manera, la marcada distancia entre los intervalos de estudio en el trabajo de Deming y Carpenter podría estar influenciando en los valores que permiten encontrar una tendencia potencial entre la profundidad del sedimento y la abundancia bacteriana, a diferencia del presente trabajo.

En el mismo estudio del Golfo de México de Deming y Carpenter (2008), se integraron las abundancias de los intervalos mencionados, reportándose valores entre  $4,84 \times 10^9$  y  $1,75 \times 10^{10}$  cel./cm<sup>2</sup> para los primeros 15 cm, valores que, al igual que los valores por niveles, son menores a los valores integrados encontrados en el presente estudio para los sedimentos frente a Callao, los cuales están entre  $4,61 \times 10^{10}$  y  $2,41 \times 10^{11}$  cel./cm<sup>2</sup> (Tabla 6).

La densidad microbiana en el nivel 1 y la integrada no presentó diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre las tres profundidades estudiadas, como muestran las Tablas 21 y 22. Aunque las profundidades de las estaciones aquí evaluadas (48m, 93m y 143m) no son tan grandes ni distantes entre sí como las de otros estudios, esta falta de correlación concuerda con la del trabajo de Deming y Carpenter (2008) para los sedimentos en el Golfo de México, y con lo señalado por otros autores respecto a que el valor de la densidad microbiana en sedimentos marinos es constante ( $\sim 10^9$  cel./cm<sup>3</sup>) indiferentemente de la profundidad del océano en la que se encuentren (Schmidt *et al.*, 1998; Jorgensen *et al.*, 2006).

En 1994, Parkes *et al.* también señalan que en las aguas con alta productividad del margen peruano hay una mayor abundancia bacteriana a comparación de los lugares en donde hay baja productividad. Asimismo, encontraron una diferencia significativa entre la abundancia bacteriana en la superficie del sedimento y la capa que se encuentra a seis metros de profundidad, de ahí en adelante la abundancia disminuye lentamente, con ocasionales incrementos que persisten incluso a grandes profundidades, ya que el perfil estudiado alcanzó hasta los 518 metros bajo la superficie del sedimento. En el presente estudio sólo se trabajó con 4 capas de sedimento (niveles) comprendidos dentro de los primeros diez centímetros de

profundidad, en los cuales no se observó diferencia significativa alguna (Tabla 20). Nuestros resultados más bien concuerdan con el trabajo de Novitsky (1987), quien mediante técnicas de absorción de adenina, señala que la tasa de crecimiento específico de las comunidades microbianas en los intervalos sub-superficiales 0-1, 1-2, 2-3, 3-4 y 4-5 cm es uniforme.

Podemos decir entonces que no se puede determinar que exista una relación entre la profundidad de sedimento y la densidad microbiana si estudiamos perfiles de intervalos pequeños, es decir, de pocos centímetros de profundidad. Se necesitaría un perfil mayor como el utilizado por Parkes *et al.* (1994) para poder encontrar alguna relación. Esto se debe a los procesos de mezcla o bioturbulencia, que ocurren en las capas más superficiales de sedimento, lo que hace que en las capas subsuperficiales se puedan encontrar abundancias equivalentes y ocasionalmente mayores a los observados en la superficie (Pusceddu *et al.*, 2005), como se muestran en las Figuras 20, 21 y 22 para las estaciones 1, 2 y 4, respectivamente.

En 1998 Schmidt *et al.* resaltan la importancia de considerar a las bacterias como organismos en lugar de compuestos químicos extraíbles, de tal manera que, al igual que la fauna de mayor tamaño, ésta debe ser escalada al volumen del sedimento y no a su peso, como en la mayoría de la literatura de este tema. Así, ellos registraron que cuando los resultados se escalaban al peso seco del sedimento marino, la abundancia era mayor en la superficie (0-1) que en las capas sub-superficiales (1-3); mientras que cuando se escalaban al volumen, los resultados permanecían relativamente constantes. Las diferencias observadas son resultado de los cambios de la porosidad en la interfase agua-sedimento, lo que hace que los valores escalados a peso seco sean diferentes.

Como la mayor parte de la bibliografía reporta los datos de abundancia y biomasa microbiana escalados a gramo de sedimento seco, los resultados de este trabajo se transformaron a dichas unidades para poderlos comparar, empleando la fórmula:

$$\text{densidad}_{\text{microbiana}} \left( \frac{\text{cel.}}{\text{g}} \right) = \text{densidad}_{\text{microbiana}} \left( \frac{\text{cel.}}{\text{cm}^3} \right) \times \frac{1}{2,65 \times \text{densidad aparente} \left( \frac{\text{g}}{\text{cm}^3} \right) \text{ del sedimento}}$$

Con esta escala, la densidad microbiana varió de  $9,73 \times 10^9$  cel./g (octubre) a  $5,49 \times 10^{11}$  cel./g (abril), y fue mayor a la encontrada por otros autores en otras áreas de estudio; como Gillan *et al.* (2005), con valores entre  $4,3 \times 10^8$  y  $1,3 \times 10^9$  cel./g en los sedimentos de Sør fjord, Noruega; Kuwae y Hosokawa (1999), con valores entre  $2,0 \times 10^8$  y  $3,54 \times 10^9$  cel./g en la Bahía de Tokio y Sestanovic *et al.* (2005), con valores entre  $3,54 \times 10^9$  cel./g a  $8,08 \times 10^9$  cel./g en el Mar Adriático. Otros valores de abundancia fueron reportados por Mauclaire *et al.* (2004), para los sedimentos frente a la costa del Perú (ODP, Sitio 1229), dentro del rango de 9,3 a 4,7 cel./g en los primeros 30 metros debajo de la superficie, y de  $1,6$  a  $2,7 \times 10^8$  cel./g debajo de los 37 metros de profundidad. Por otro lado, nuestros resultados son similares a los encontrados por Alongi (1988) en los sedimentos de manglares tropicales ( $1,1 \times 10^{11}$  cel./g).

## 6.2. Biovolumen y biomasa microbiana

Basados en la metodología propuesta por Kuwae y Hosokawa (1999), realizamos las estimaciones a partir de la densidad microbiana y el biovolumen, aplicando el factor de 220 fgC por cada  $\mu\text{m}^3$ , factor determinado anteriormente por Bratback y Dundas (1984).

El biovolumen microbiano hallado en los sedimentos marinos frente a Callao se encuentra en el rango de 0,06 a 0,51  $\mu\text{m}^3/\text{cel.}$ , los cuales a su vez están dentro del rango reportado por Sestanovic *et al* (2005) en el Mar Adriático, en donde varió de 0,086 a 0,514  $\mu\text{m}^3$ .

Otros resultados de biovolumen son reportados por Kuwae y Hosokawa (1999) para la Bahía de Tokio, los cuales oscilan entre 0,07 y 0,22  $\mu\text{m}^3$ . La mayoría de nuestros resultados están dentro de este mismo rango, excepto por los dos valores más altos (0,33 y 0,51  $\mu\text{m}^3/\text{cel.}$ , para los niveles 4 y 2, respectivamente, de la estación 4 en el mes de abril). En los meses de febrero y abril se observaron las células de mayor tamaño, lo que podría estar relacionado a una mayor proporción de la interfase agua-sedimento registrada en esos meses y a la presencia de bacterias filamentosas que por la manipulación pudieron dejar restos en las muestras que se observaron.

Asimismo, nuestros resultados para biovolumen se encuentran dentro del rango reportado por Serrano (2003) de 0,092 a 0,408  $\mu\text{m}^3$  encontrado en las aguas de la Bahía de Ferrol, Chimbote, en donde las altas concentraciones de materia orgánica contribuyen en el proceso de eutrofización. En el mismo trabajo, Serrano encontró que el coeficiente de correlación entre biomasa y abundancia fue mayor que entre biomasa y biovolumen, pero que aún así no se puede usar la abundancia por sí sola para hallar los valores de biomasa bacteriana.

Por otro lado, los biovolúmenes encontrados fueron mayores a los de Deming y Carpenter (2008) en el Golfo de México (0,027 – 0,072  $\mu\text{m}^3$ ), quienes indican que cuando usaban el biovolumen y abundancia para el cálculo de biomasa, ésta siempre

era mayor que si se calculaba simplemente a partir de la abundancia, y sugieren que tal vez sea adecuado hacerlo de la segunda manera sólo para sedimentos en fondos abisales, en los cuales el tamaño celular no presenta diferencias significativas. En este sentido, en su estudio del Golfo de México, ellos encontraron células más pequeñas en estaciones de mayor profundidad, lo que coincide con los resultados de la Tabla 21, en donde se aprecia que el rango promedio del biovolumen celular en la superficie es mayor en la estación 1, de menor profundidad.

Respecto a la biomasa, los valores integrados oscilaron entre 976,11  $\mu\text{gC}/\text{cm}^2$  y 14639,45  $\mu\text{gC}/\text{cm}^2$ , los cuales son ampliamente mayores a los encontrados por Boetius & Lochte (2000) en el Mar Árabe (400 – 3500  $\mu\text{gC}/\text{cm}^2$ , valores integrados de los 10 primeros centímetros de sedimento, considerando niveles de 1 cm cada uno), y a los encontrados por Deming y Carpenter (2008) en los sedimentos del Golfo de México (100 – 260  $\mu\text{gC}/\text{cm}^2$ , valores integrados de los 15 primeros centímetros de sedimento, extrapolando los datos encontrados en los intervalos 0-1, 4-5, 9-10 y 14-15 cm).

Asimismo, la biomasa microbiana no presentó relación lineal con los niveles de profundidad en el sedimento, como se observa en las Figuras 33C, 34C y 35C para las estaciones 1 ( $R^2 = 0,124$ ), 2 ( $R^2 = 0,002$ ) y 4 ( $R^2 = 0,0017$ ), respectivamente. Sin embargo, en la Tabla 20 se puede apreciar que para la estación 1 la biomasa del nivel 1 es significativamente mayor a la del nivel 4 ( $p < 0,01$ ). Con estos datos se puede inferir una asociación lineal débil entre la biomasa y la profundidad sub-superficial en esta estación, que es además la de menor profundidad (43 m). En este punto cabe señalar que a diferencia de las estaciones 2 y 4, en la estación 1 sí se encontró una correlación positiva significativa entre biomasa y clorofila. Esta diferencia puede

deberse al flujo de carbono orgánico particulado (COP) que se deposita en la superficie del sedimento, el cual es menor y menos reactivo a mayor profundidad (Fenchel, 1988). Es decir, la estación 1 recibe un mayor flujo de carbono orgánico y de clorofila, lo cual explicaría por qué en esta estación el biovolumen es mayor (Tabla 21) y por qué si se puede apreciar una correlación entre la biomasa y la clorofila, lo que no ocurre en las otras dos estaciones de mayor profundidad, en donde probablemente el carbono orgánico que sedimenta no juegue un rol determinante en la dinámica microbiana debido a la poca reactividad con la que se deposita en el fondo marino, y que más bien serían otros los factores que determinan esta dinámica, como se explica en el ítem 6.3. De la misma forma, la asociación lineal débil observada indica que ocurre una disminución de la biomasa a mayor nivel de profundidad en la estación 1, lo que se debería a la mayor cantidad de materia orgánica y clorofila que se deposita en la superficie del sedimento, y cuya concentración también observamos disminuye a mayor nivel de profundidad ( $R^2 = 0,596$ ), como se muestra en la Figura 33D. La inexistencia de una relación similar entre la biomasa y el nivel de profundidad en las estaciones 2 y 4 se debería, como ya se explicó, a la poca cantidad y reactividad de la materia orgánica que se deposita en los sedimentos de estas estaciones.

Tampoco se encontró una relación lineal de profundidad oceánica con la biomasa del nivel 1 ( $R^2 = 0,0143$ , Figura 37B) ni con la biomasa integrada ( $R^2 = 0,0387$ , Figura 38B). Esto difiere con lo descrito por Deming & Carpenter (2008) para el Golfo de México, y por Boetius & Lochte (2000) para el Mar Árabe, quienes sí encontraron una disminución significativa de la biomasa con la profundidad oceánica. Sin embargo debemos señalar que para estos estudios las estaciones tenían profundidades de más de 500 m, mucho mayores a las estudiadas en el presente trabajo, y que además se compararon datos entre los 500 m y 4000 m de profundidad, mientras que nosotros



sólo analizamos datos entre los 50 m y 150 m, aproximadamente, frente a la bahía del Callao, por lo que es probable que no se haya observado deiferencias significativas debido al estrecho margen de diferencia entre las profundidades del transecto empleado.

Novitsky (1987) evaluando el contenido de ATP en las muestras reportó que, al igual que la abundancia, la biomasa microbiana tiene su pico máximo en la interfase, mientras que no presenta variación significativa entre los primeros cinco centímetros de profundidad de sedimento; estas relaciones son similares a las encontradas en el presente trabajo. De igual manera, estimando el contenido de fosfolípidos como indicador de biomasa, Zink *et al* (2008) encontraron una disminución con la profundidad del sedimento, pero que podía incrementarse de nuevo en horizontes inferiores. Esta técnica sirve para estimar la biomasa microbiana que incluye a todos los organismos de pequeño tamaño inclueyendo bacterias, hongos, protozoos y metazoos. Utilizando esta misma técnica, Boetius & Lochte (2000) encontraron la misma relación entre la biomasa microbiana y la profundidad en el sedimento para varias estaciones abisales del Mar Árabe, mientras que en otras de menor profundidad, no encontró estas diferencias.

Transformando las unidades de biomasa microbiana, nuestros valores oscilan en el rango de 172,05 a 12839,97  $\mu\text{gC/g}$ , y están por encima de los valores encontrados por Sestanovic *et al.* (2005), los cuales varían 78 y 378  $\mu\text{gC/g}$  en el Mar Adriático.

### **6.3. Influencia de los parámetros oceanográficos y sedimentarios sobre las variables microbianas densidad, biovolumen y biomasa**

Diferentes autores mencionan la disponibilidad de materia orgánica como la principal fuente de energía en los sedimentos marinos, y por lo tanto, como el principal factor que influye en la dinámica de las comunidades microbianas en estos ambientes. De igual manera, la Ley de Liebig indica que la disponibilidad de los nutrientes es importante para el mantenimiento del tamaño de las poblaciones de microorganismos, y que la escasez de elementos como el C, N, Fe, P u O limita su crecimiento (Atlas y Bartha, 2002).

El área de estudio se encuentra en la ZMO, caracterizada por una alta producción de materia orgánica, cuyo exceso eventualmente sedimenta hasta llegar al fondo marino, en donde es remineralizada por la actividad microbiana principalmente. Así, los microorganismos allí presentes juegan un rol importante, ya que son los márgenes continentales debajo de la ZMO en donde ocurre la mayor tasa de enterramiento de carbono (Levin, 2003), lo que logran a través de diferentes procesos enzimáticos. Parkes *et al.* (1990) mencionan que el descubrimiento de la biomasa bacteriana que está presente incluso a grandes profundidades debajo de la superficie del sedimento (> 800 metros debajo) ha aportado un 10% adicional a la biomasa global.

Los procesos enzimáticos que intervienen en la remineralización de la materia orgánica a su vez responden a diferentes factores, como el  $E_h$ , contenido de agentes oxidantes y reductores, temperatura y la misma calidad y biodisponibilidad de materia orgánica, entre otros; los cuales influyen en la abundancia, biovolumen y biomasa microbiana. Así, Deming y Carpenter (2008) encontraron que a mayor profundidad oceánica, la población era de menor tamaño y que una posible explicación es la

gradiente paralela de limitación de nutrientes, ya que una mayor profundidad implica mayor presión y menor cantidad de materia orgánica reactiva. Este hecho es consistente con la relación positiva entre la biomasa bacteriana bentónica y el flujo vertical de carbono orgánico particulado (COP), en donde el análisis parcial de correlación confirmó la importancia de los nutrientes sobre la profundidad.

Por otro lado, Parkes *et al.* (2000) proponen que el reabastecimiento de sulfato o la presencia de metano termogénico en capas sub-superficiales más profundas originan incrementos en la abundancia microbiana aún a más de 100 m bajo la superficie del sedimento. En este mismo trabajo, Parkes encontró una abundancia substancial en capas a 500 m de profundidad en el sedimento ( $2,76 \times 10^6$  cel./cm<sup>3</sup>), pero ésta representa una disminución del 97% con respecto a la abundancia en la superficie. Ya en profundidad, la abundancia no decrece significativamente y se han encontrado valores de  $3,2 \times 10^5$  cel./cm<sup>3</sup> incluso a 842 m debajo de la superficie del sedimento, por lo que es de esperarse que los microorganismos estén presentes a mucha mayor profundidad.

Por otro lado, Arntz *et al* (2006) mencionan que frente a Chile y Perú, en los sedimentos enriquecidos con materia orgánica durante períodos post-EN se han encontrado bacterias filamentosas (ej. *Thioploca* sp. y *Beggiatoa* sp.) que contienen gránulos de azufre y están asociadas a condiciones reducidas. Asimismo, en estos sedimentos, la sulfato reducción es el proceso más importante para la oxidación de materia orgánica y se produce por actividad bacteriana de diversos géneros, entre ellos *Desulfovibrio*, *Desulfomonas*. Esta reacción produce sulfuro de hidrógeno, el cual es oxidado por bacterias filamentosas en una reacción acoplada a la desnitrificación, lo que produce iones sulfato que vuelven a entrar en este ciclo.

Comparando esto con nuestros resultados, podemos decir que los microorganismos son capaces de utilizar los elementos más disponibles en el lugar en el que se encuentren, y que el hecho de no haber encontrado diferencias significativas de la abundancia y biomasa microbianas entre las estaciones 1, 2 y 4 se debe a la diversidad metabólica de los microorganismos de poder utilizar sustratos y donadores de electrones diferentes en cada profundidad. Esto encuentra un mejor sustento cuando revisamos los resultados de correlación entre la biomasa y la clorofila (indicador de la materia orgánica) en cada estación (Tabla 19), donde observamos una correlación positiva significativa de estas variables únicamente en la estación 1. Se puede inferir entonces que en esta estación, en donde se registraron concentraciones de oxígeno mayores a las de las estaciones 2 y 4 (Tabla 8), existen microorganismos que realizan procesos metabólicos aerobios que degradan eficientemente la materia orgánica. Luego, deberíamos esperar una menor biomasa microbiana en los sedimentos de las estaciones 2 y 4, porque en teoría el flujo de la materia orgánica es menor a mayor profundidad, pero esto no ocurre porque aquí se estarían desarrollando de manera más eficiente grupos bacterianos capaces de metabolizar otros sustratos, lo que da lugar al desarrollo de procesos como la sulfato reducción y la desnitrificación bacteriana, que como anteriormente mencionamos, es posible gracias a la presencia de *Thioploca* sp. que vuelve a poner en disponibilidad los iones sulfato para otros grupos bacterianos. De igual manera, la biomasa promedio de *Thioploca* sp. durante el mismo año (2007) y en las mismas estaciones (1 y 2) del presente estudio fue significativamente mayor en la estación 2 ( $E2 = 0,46 \text{ gCm}^{-2}$ ;  $E1 = 0,05 \text{ gCm}^{-2}$ ). Esto sustenta aún más que la razón por la que no se encontraron diferencias significativas de biomasa entre las estaciones es la diversidad metabólica de los microorganismos, infiriendo de ésta manera que en la estación 1 probablemente haya una predominancia de microorganismos heterótrofos que

degradan la materia orgánica usando el oxígeno como aceptor de electrones, y que en la estación 2 y 4 se desarrollan con más eficiencia microorganismos quimioautótrofos y quimioheterótrofos. Cabe señalar que el mejor aceptor de electrones en la degradación de la materia orgánica es el oxígeno, y que al estar presente se ha de suponer que el proceso predominante será aerobio.

Ahora bien, no podemos decir que estos grupos de microorganismo sean mutuamente excluyentes, más bien es probable que se desarrollen dentro del mismo espacio, y que su competitividad metabólica es la que determina en qué ambiente se desarrollan con más eficiencia. De esta manera, en la estación 1 estaría ocurriendo predominantemente una degradación aerobia de la materia orgánica y en menor medida una degradación anaerobia de este mismo sustrato, junto con procesos autótrofos o que utilicen otra fuente de energía para desarrollarse. Esto explicaría la falta de correlación entre la biomasa microbiana y el oxígeno superficial. De la misma forma, en las estaciones 2 y 4 al haber una menor cantidad de oxígeno los procesos predominantes serán anaerobios y utilizarán con menor eficiencia la materia orgánica como fuente de carbono, lo cual junto con la mayor disponibilidad de aceptores de electrones alternativos al oxígeno hará posible un mayor desarrollo de microorganismos quimioautótrofos, lo que explicaría la falta de correlación entre la biomasa y la clorofila (indicador de la materia orgánica) en las estaciones 2 y 4.

Estas deducciones deberán ser evaluadas en el futuro, por lo que se recomienda realizar estudios de la estructura de las comunidades microbianas presentes en las estaciones 1, 2 y 4, empleando técnicas como FISH o PCR, por ejemplo.

Por otro lado, también se encontró una correlación lineal negativa con el %COT ( $p < 0,01$ ). La mayoría de microorganismos en los sedimentos presentan metabolismo heterótrofo, mediante el cual consumen el carbono orgánico y lo remineralizan hasta su forma inorgánica, lo que podría explicar la relación negativa entre biomasa y %COT, es decir, a mayor población microbiana es mayor la cantidad de carbono orgánico metabolizado y, por tanto, menor la cantidad de carbono orgánico que se queda en el sedimento. Por su parte, Deming & Carpenter (2008) encontraron una relación inversa (per débil) entre la abundancia bacteriana y el carbono orgánico disuelto.

Por lo tanto, no se puede explicar el comportamiento de las variables microbianas sólo en función de la materia orgánica, pues existen otros factores que estarían influyendo fuertemente en la dinámica de los microorganismos en el sedimento. Así, una mejor aproximación puede ser obtenida si evaluamos otros como la concentración de sulfatos, nitratos, metano, flujo de carbono, productividad microbiana, ruta de la materia orgánica con radioisótopos, temperatura, el  $E_h$ , el tamaño de partícula del sedimento, bioturbulencia, etc.

De esta manera, en el presente trabajo se encontró una correlación positiva significativa de la biomasa microbiana con la temperatura ( $p < 0,01$ ) y con la salinidad ( $p < 0,05$ ), lo que evidenciaría que los microorganismos en los sedimentos son muy sensibles a los cambios de temperatura, la cual osciló entre 12,1 °C y 17,2 °C en el agua de fondo cercana al sedimento.

La dinámica bacteriana en función a los diversos factores ambientales que presenta el sedimento marino es muy compleja, por lo que no es suficiente tratar de explicarla

únicamente con las variables presentadas en este estudio. Así por ejemplo, con experimentos en laboratorio, Pusceddu *et al* (2005) demostraron que la resuspensión de partículas, que puede ser ocasionada por bioturbulencia o corrientes, provoca una reducción significativa en la biomasa bacteriana del sedimento, factor que también influye en la dinámica bacteriana de los sedimentos frente al Callao, ya que es un área en el que frecuentemente ocurren procesos de afloramiento que remueven los fondos marinos. Del mismo modo, la presión ejercida por organismos depredadores también afecta los cambios en el tamaño de la población.

Este trabajo es un aporte en el conocimiento de la dinámica microbiana en sedimentos marinos y su respuesta frente a factores sedimentarios y oceanográficos que se presentan en la zona mínima de oxígeno que ocurre en el sistema marino costero frente al Callao. Se han aportado datos del tamaño de la población microbiana en relación a la clorofila como indicador de la materia orgánica y el importante rol que juegan en su remineralización para el enriquecimiento de nutrientes del sistema marino. Sin embargo, debido a la complejidad que involucra el estudio de la ecología microbiana y los ciclos biogeoquímicos, no es posible explicar completamente la dinámica microbiana con los parámetros aquí presentados, se necesita desarrollar más investigaciones en este campo para lograr entender el comportamiento de las comunidades microbianas en esta área de estudio, que debido a su productividad, es de mucha importancia en la economía del país.

## 7. CONCLUSIONES

- En la estación más cercana a la costa y de menor profundidad se ha encontrado una relación lineal positiva significativa entre la clorofila y biomasa microbiana, así como entre clorofila y biovolumen. No se encontró relación alguna entre la clorofila y las variables microbianas en las estaciones 2 y 4, de mayor profundidad.
- Existe una correlación lineal negativa significativa entre el COT y la abundancia microbiana, así como entre el COT y la biomasa microbiana.
- Los microorganismos presentes en la superficie del sedimento son sensibles a los cambios de temperatura del agua de fondo, pues se encontró una correlación positiva significativa de este factor con la abundancia y con la biomasa.
- No se observó ninguna relación entre las variables microbianas y la concentración de oxígeno en el agua de fondo en la superficie del sedimento.
- La uniformidad de la densidad y biomasa microbiana en las diferentes profundidades oceánicas se debe a la diversidad metabólica de las poblaciones en cada estación.
- Entre los valores por niveles, no se observó una disminución en los valores de abundancia y biomasa con la profundidad en el sedimento, lo que sugiere que existen otros factores, además de la depositación de materia orgánica fresca de origen fitoplanctónico, que juegan un rol importante en la dinámica de microorganismos en sedimentos.



## 8. RECOMENDACIONES

- Gracias a su rapidez y eficiencia, la técnica de microscopía de epifluorescencia puede ser utilizada en programas de monitoreo de sedimentos marinos para evaluar sus cambios en escalas grandes de tiempo que permitan elaborar modelos según la estacionalidad y la ocurrencia de eventos como el ENSO que ocurren en el mar frente a Callao.
- Para investigaciones de dinámica poblacional se recomienda emplear una técnica que diferencie las células activas de las inactivas, pues podrían encontrarse diferencias respecto a cuál es la proporción de las que están participando en la degradación de la materia orgánica en el momento del muestreo.
- Empleando técnicas moleculares como DGGE y FISH se puede determinar la composición taxonómica de comunidades microbianas y así saber cuáles son las más frecuentes en los sedimentos debajo de la zona mínima de oxígeno.
- Para poder entender mejor el rol de las bacterias en la remineralización de la materia orgánica, se deben realizar más estudios. Se necesita investigar otras variables que influyan en su desarrollo, como el flujo de materia orgánica hacia el sedimento, tasa de depredación por organismos de mayor tamaño, presencia de bacterias filamentosas y el contenido de elementos como el N, P, Mg, Fe, S.

## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALONGI, D. M. Bacterial Productivity and Microbial Biomass in Tropical Mangrove Sediments. *Microb. Ecol.* 1988, vol. 15, p. 59-79.
- ARNTZ, W.E., GALLARDO, V.A., GUTIÉRREZ, D., ISLA, E., LEVIN, L.A., MENDO, J., MENDO, J., NEIRA, C., ROWE, G.T., TARAZONA, J., WOLFF, M. El Niño and similar perturbation effects on the benthos of the Humboldt, California, and Benguela Current upwelling ecosystems. *Advances in Geosciences*. 2006, vol. 6, p. 243-265.
- ATLAS, R.M., BARTHA, R. *Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental*. Traducido por Alfonso Corzo, Joaquina Gabarrón, Ambrosio García, Arantzazu Gorostiza, Marta Montolio, y Carmina Rodríguez; Editor: Isabel Capella. 2da ed. en español. Madrid: Pearson Educación S.A., 2002. (Traducido de *Microbial Ecology. Fundamentals and Applications*). ISBN: 84-7829-039-7.
- BAKUN, A., WEEKS, S. The marine ecosystem off Peru: What are the secrets of its fishery productivity and what might its future hold? *Progress in Oceanography*. 2008, vol. 79, p. 290-299.
- BANGE, H.W., NAQVI S.W.A., CODISPOTI, L.A. The nitrogen cycle in the Arabian Sea. *Progress in Oceanography*. 2005, vol. 65, p. 145-158.
- BERTRAND, A., SOLER, P., ÑIQUEN, M., GUTIERREZ, D. Funcionamiento bio-físico-químico (actual y pasado) y ecológico del Sistema de la Corriente de Humboldt frente a las costas peruanas y sus recursos vivos explotables. Recuperado el 29 de Setiembre del 2008, de <http://www.peru.ird.fr/>
- BEVINGTON, P.R.; ROBINSON, D.K. *Data reduction and error analysis for the physical sciences*. 2nd ed. United States of America: WCB McGraw-Hill, 1992. ISBN: 0-07-911243-9.

- BIANCHI, A. Y GIULIANO, L. Enumeration of Viable Bacteria in the Marine Pelagic Environment. *Applied And Environmental Microbiology*. 1996, vol. 62, n° 1, p. 174-177.
- BOETIUS, A.; LOCHTE, K. Regional variation of total microbial biomass in sediments of the deep Arabian Sea. *Deep-Sea Research II*. 2000, vol. 47, p. 149-168.
- BRATBAK, G. Y DUNDAS, I. Bacterial Dry Matter Content and Biomass Estimations. *Applied and Environmental Microbiology*. 1984, vol. 48, n° 4, p. 755-757.
- CABRERA, C., MALDONADO, M., ARÉVALO, W., PACHECO, R., GIRALDO, A., QUISPE, J. Planificación y Gestión Integrada de la zona marina costera del Callao. *Rev. Fac. Ing. Geo. Min. Met. Geog.* 2005, vol. 8, n° 16, p. 38-43.
- CANFIELD, D., KRISTENSEN, E., THAMDRUP, B. *Aquatic Geomicrobiology*. California: ELSEVIER Academic Press, 2005. ISBN: 0-12-026147-2.
- CARPENTER, J.H. The Chesapeake Bay Institute technique for the Winkler dissolved oxygen method. *Limnology and Oceanography*. 1965, vol. 10, p. 65-91.
- CHAMBERS, D. *Table of Fluorochromes* [en línea]. Barrie, Jona, Center for Cytometry and Molecular Imaging, Salk Institute for Biological Studies, 1996 [ref . de 15 de marzo del 2010]. Disponible en: <<http://flowcyt.salk.edu/fluor.html>>
- DARZYNKIEWICZ, Z. Differential staining of DNA and RNA in intact cells and isolated cell nuclei with acridine orange. *Methods in Cell Biology*. 1990, vol. 33, p. 285-298.
- DEMARCQ, H. Trends in primary production, sea surface temperature and wind in upwelling systems (1998-2007). *Progress in Oceanography*. 2009, vol. 83, p. 376-385.
- DEMING, J.W.; CARPENTER, S.D. Factors influencing benthic bacterial abundance, biomass, and activity on the northern continental margin and deep basin of the Gulf of Mexico. *Deep-Sea Research II*. 2008, vol. 55, p. 2597-2606.

- FENCHEL, T., KING, GM., BLACKBURN, TH. *Bacterial Biogeochemistry: The Ecophysiology of Mineral Cycling*. 2<sup>nd</sup> ed. Great Britain: Academic Press, 1988. ISBN: 012-103455-0.
- GAUDETTE, H. y FLIGHT, W.R., TONER, L., FOLGER, D.W. An inexpensive titration method for the determination of organic carbon in recent sediments. *Journal of Sedimentary Petrology*. 1974, vol. 44, n° 1, p. 249-253.
- GILLAN, D.C., DANIS, B., PERNET, P., JOLY, G., DUBOIS, P. Structure of sediment-associated microbial communities along a heavy-metal contamination gradient in the marine environment. *Applied and Environmental Microbiology*. 2005, vol 71, n° 2, p. 679-690.
- GUTIÉRREZ, D., E. ENRÍQUEZ, L. QUIPÚZCOA Y R. MARQUINA. 2005. Respuestas de la fauna bentónica a cambios del oxígeno disuelto y de las condiciones biogeoquímicas del sedimento frente a Callao durante el 2004. Informe interno IMARPE, 26 p.
- GUTIÉRREZ, D., ENRÍQUEZ, E., PURCA, S., QUIPÚZCOA, L., MARQUINA, R., FLORES, G., GRACO, M. Oxygenation episodes on the continental shelf of central Peru: Remote forcing and benthic ecosystem response. *Progress in Oceanography*. 2008, vol. 79, p. 177-189.
- GUTIERREZ, D., GALLARDO, V.A., MAYOR, S., NEIRA, C., VÁSQUEZ, C., SELLANES, J., RIVAS, M., SOTO, A., CARRASCO, F., BALTAZAR, M. Effects of dissolved oxygen and fresh organic matter on the bioturbation potential of macrofauna in sublittoral sediments off Central Chile during the 1997/1998 El Niño. *Mar Ecol Prog Ser*. 2000, vol. 202, p. 81-99.

- HOLME, N.A., MCINTYRE, A.D. (1971). *Methods for the Study of Marine Benthos (IBP Handbook Series N° 16)*. 1<sup>st</sup> Edition. Oxford and Edinburgh: Blackwell Scientific Publications, 1971. ISBN: 978-0632064205.
- JORGENSEN, B.B.; D'HONDT, S.L.; MILLER, D.J. Leg 201 synthesis: Controls on microbial communities in deeply buried sediments. *Proceedings of the Ocean Drilling Program, Scientific Results*. 2006, vol. 201, p. 1-45.
- KUWAE, T., HOSOKAWA, Y. Determination of Abundance and Biovolume of Bacteria in Sediments by Dual Staining with 49,6-Diamidino-2-Phenylindole and Acridine Orange: Relationship to Dispersion Treatment and Sediment Characteristics. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999, vol. 65, n° 8, p. 3407-3412.
- LAM, P., LAVIKA, G., JENSENA, M., VAN DE VOSSENBERGB, J., SCHMIDB, M., WOEBKEN, D., GUTIÉRREZ, D., AMANN, R., JETTENB, M., KUYPERS, M. Revising the nitrogen cycle in the Peruvian oxygen minimum zone. *PNAS*. 2009, vol. 106, n° 12, p. 4752-4757.
- LEVIN, L., GUTIÉRREZ, D., RATHBURN, A., NEIRA, C., SELLANES, J., MUÑOZ, P., GALLARDO, V., SALAMANCA, M. Benthic processes on the Peru margin: a transect across the oxygen minimum zone during the 1997–98 El Niño. *Progress in Oceanography*. 2002, n° 53, p. 1-27.
- LEVIN, L.A. Oxygen Minimum Zone Benthos: Adaptation and Community Response to Hypoxia. *Oceanography and Marine biology: an Annual Review*. 2003
- MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., PARKER, J. (2003) *Brock: Biología de los Microorganismos*. Traductores: Mariano Gacto, Germán Larriba, Tomás González, Carmina Rodríguez, Ricardo Guerrero, Miguel Sánchez, y Javier Jiménez. Editor: Isabel Capella. 10ma ed. Madrid: Pearson Educación S.A., 2004. (Traducido de *Brock: Biology of Microorganisms*). ISBN: 84-205-3679-2.

- MADL, P. *The El Niño (ENSO) Phenomenon* [en línea]. Department of Ecology, University of Salzburg, 2000. [ref. de 20 de abril de 2010]. Disponible en [http://www.sbg.ac.at/ipk/avstudio/pierofun/atmo/el\\_nino.htm](http://www.sbg.ac.at/ipk/avstudio/pierofun/atmo/el_nino.htm)
- MAUCLAIRE, L., MARMONIER, P., GIBERT, J. Sampling water and sediment in interstitial habitats: a comparison of coring and pumping techniques. *Archives Fur Hydrobiologie*. 1998, vol. 142, p. 111-123.
- MAUCLAIRE, L., ZEPP, K., MEISTER, P., AND MCKENZIE, J. Direct in situ detection of cells in deep-sea sediment cores from the Peru Margin (ODP Leg 201, Site 1229). *Geobiology*. 2004, n° 2, p. 217-223.
- MORALES, C.E., BLANCO, J., BRAUN, M., REYES, H., SILVA, N. Chlorophyll-a distribution and associated oceanographic conditions in the upwelling region off northern Chile during the winter and spring 1993. *Deep-Sea Research I*. 1996, vol. 43, n° 3, p. 267-298.
- NOVITSKY, J.A. Microbial Growth Rates and Biomass Production in a Marine Sediment: Evidence for a Very Active but Mostly Nongrowing Community. *Applied and Environmental Microbiology*. 1987, vol. 53, n° 10, p. 2368-2372.
- PACE, N.R. New perspectives in the natural microbial world: molecular microbial ecology. *ASM News*. 1996, vol. 62, p. 463-470.
- PACIFIC MARINE ENVIRONMENTAL LABORATORY. *El Niño theme page* [en línea]. National Oceanic and Atmospheric Administration, 2010 [ref. de 14 de mayo de 2010]. Disponible en: < [http://www.pmel.noaa.gov/tao/el\\_nino/nino-home.html#>](http://www.pmel.noaa.gov/tao/el_nino/nino-home.html#>).
- PANTOJA, S. Biogeochemistry of the OMZ off Chile. *Suplemento Gayana*. 2006, vol. 70, p. 62-67.

- PARKES, R.J., HERBERT, R.A., CRAGG, B.A., FRY, J.C., WIMPENNY, J.W.T. Bacterial biomass and activity in deep sediment layers from the Peru margin. *Phil. Trans. K. Sac. Land. A.* 1990, vol. 331, p. 139-153.
- PARKES, B.J., CRAGG, B.A., BALE, S.J., GETLIFF, J.M., GOODMAN, K., ROCHELLE, P.A., FRY, J.C., WEIGHTMAN, A.J., HARVEY, S.M. Deep bacterial biosphere in Pacific Ocean sediments. *Nature.* 1994, vol. 371, p. 410-413.
- PARKES, R.J., CRAGG, B.A., WELLSBURY, P. Recent studies on bacterial populations and processes in subseafloor sediments: A review. *Hydrogeology Journal.* 2000, vol. 8, p. 11-28.
- PUSCEDDU, A.; FIORDELMONDO, C.; DANOVARO, R. Sediment Resuspension Effects on the Benthic Microbial Loop in Experimental Microcosms. *Microb. Ecol.* 2005, vol. 50, n° 4, p. 602-613.
- SARDESSAI, Y.N. Viable but non-culturable bacteria: their impact on public health. *News. Current Science.* 2005, vol. 89, n° 10, p. 25.
- SCHWARZACHER, T., HESLOP-HARRISON, P. *Practical in situ hybridization.* Primera Edición. Oxford: BIOS Scientific Publishers, 2000.
- SERRANO HUIÑOCANA, Wilbert. "Determinación de la densidad poblacional de bacterias marinas por microscopía de epifluorescencia y su relación con la eutrofización en la Bahía de Ferrol, Chimbote-Perú". Asesor: Jorge León Quispe. Tesis para optar al Título Profesional de Biólogo con Mención en Microbiología y Parasitología. UNMSM, EAP de Ciencias Biológicas. Lima, 2003.
- SESTANOVIC, S., SOLIC, M., KRSTULOVIC, N., BOGNER, D. Volume, abundance and biomass of sediment bacteria in the eastern mid Adriatic Sea. *Acta Adriática.* 2005, vol. 46, n° 2, p. 177-191.

- SCHMIDT, J.L.; DEMING, J.W.; JUMARS, P.A.; KEIL, R.G. Constancy of bacterial abundance in surficial marine sediments. *Limnol. Oceanogr.* 1998, vol. 43, n° 5, 976-982.
- WALKLEY, A., BLACK, I.A. An Examination of the Degtjareff method for determining organic carbon in soils: Effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. *Soil Sci.* 1934. vol. 63, 251-263
- WOLTER, K. “*Multivariate ENSO Index (MEI)*” [en línea]. Physical Sciences Division, Earth System Research Laboratory, National Oceanic and Atmospheric Administration. Actualizado el 6 de abril del 2009 [ref. de 25 de agosto del 2009]. Disponible en: <<http://www.cdc.noaa.gov/people/klaus.wolter/MEI/>>.
- YOUNG, M.R. Principles And Technique Of Fluorescence Microscopy. *Quarterly Journal of Microscopical Science.* 1961, vol. 102, p. 419-449.
- ZINK, K.; MANGELSDORF, K.; GRANINA, L.; HORSFIELD, B. Estimation of bacterial biomass in subsurface sediments by quantifying intact membrane phospholipids. *Anal Bioanal Chem.* 2008, vol. 390, p. 885-896.
- ZUTA, S., GUILLEN, O. Oceanografía de las Aguas Costera del Perú. *Boletín IMARPE.* 1970, vol. 2, n° 5, p. 193-196.



## **TABLAS Y FIGURAS**

**Tabla 5.** Ubicación geográfica de los puntos de muestreo

Estación	Profundidad (m)	Latitud	Longitud
1	48	12° 01.960'	077° 13.20'
2	93	12° 02.83'	077° 17.08'
4	143	12° 02.85'	077° 29.26'

**Tabla 6.** Valores integrados de densidad microbiana, biomasa bacteriana y clorofila en las estaciones 1, 2 y 4 durante los meses de febrero, abril, junio, agosto, octubre y diciembre del 2007.

mes	Estación	Densidad ( $\times 10^{11}$ cel./cm <sup>2</sup> )			Biomasa ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^2$ )			Clorofila ( $\mu\text{gChla}/\text{cm}^2$ )		
		Media		DS	Media		DS	Media		DS
Febrero	1	1.99	±	0.26	5266.68	±	650.91	182.70	±	45.75
	2	1.95	±	0.26	6593.68	±	785.71	127.16	±	9.87
	4	2.09	±	0.30	14639.45	±	2134.72	221.47	±	17.50
Abril	1	2.28	±	0.17	5912.69	±	433.43			
	2	2.41	±	0.10	8311.243	±	371.16			
	4	1.42	±	0.09	9515.114	±	692.61			
Junio	1	0.86	±	0.05	2237.922	±	118.35	110.42	±	16.26
	2	0.87	±	0.09	1647.509	±	159.05	144.90	±	6.82
	4	0.98	±	0.11	1730.359	±	133.78	195.08	±	18.33
Agosto	1	1.03	±	0.06	1859.133	±	114.96	111.63	±	7.35
	2	0.62	±	0.03	1388.469	±	58.34	131.50	±	9.86
	4	0.55	±	0.09	1078.208	±	116.63	174.00	±	24.12
Octubre	1	0.48	±	0.02	1505.42	±	73.10	156.94	±	27.75
	2	0.55	±	0.05	1367.07	±	113.09	115.36	±	15.02
	4	0.64	±	0.06	1373.49	±	129.49	182.79	±	11.45
Diciembre	1	0.79	±	0.05	1868.36	±	115.72	239.42	±	43.75
	2	0.55	±	0.03	1192.83	±	69.43	235.43	±	24.91
	4	0.46	±	0.04	976.11	±	75.12	418.23	±	19.31

**Tabla 7 (a, b, c, d, e, f).** Valores de densidad (cel./cm<sup>3</sup>), biovolumen (µm<sup>3</sup>/cel.), biomasa microbiana (µgC/cm<sup>3</sup>), y clorofila (µgChla/cm<sup>3</sup>) por nivel durante los meses de (a) febrero, (b) abril, (c) junio, (d) agosto, (e) octubre y (f) diciembre del 2007.

a. Mes: febrero

Est.	Prof. Sed. (Nivel)	Densidad (x10 <sup>10</sup> cell/cm <sup>3</sup> )		Biovolumen (µm <sup>3</sup> /cell)		Biomasa (µgC/cm <sup>3</sup> )		Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )	
		Media	DS	Media	DS	Media	DS	Media	DS
1	1	2.10 ± 0.15		0.18 ± 0.45		851.47 ± 60.23		90.71 ± 43.16	
	2	1.86 ± 0.22		0.12 ± 0.99		472.18 ± 56.58		21.85 ± 15.02	
	3	1.69 ± 0.32		0.11 ± 0.17		394.74 ± 74.06		10.00 ± 0.21	
	4	2.18 ± 0.48		0.12 ± 0.11		551.76 ± 121.24		8.03 ± 0.39	
2	1	2.10 ± 0.35		0.11 ± 0.22		490.41 ± 80.93		21.48 ± 7.36	
	2	1.74 ± 0.20		0.16 ± 0.31		620.24 ± 70.61		12.60 ± 1.87	
	3	1.70 ± 0.21		0.22 ± 0.21		815.44 ± 102.62		11.00 ± 1.05	
	4	2.11 ± 0.50		0.13 ± 0.15		607.34 ± 142.97		12.02 ± 1.09	
4	1	2.10 ± 0.63		0.19 ± 0.26		879.07 ± 265.92		28.79 ± 16.00	
	2	2.27 ± 0.16		0.51 ± 0.44		2527.93 ± 176.89		18.18 ± 0.99	
	3	1.96 ± 0.01		0.28 ± 0.32		1189.58 ± 7.22		21.78 ± 2.23	
	4	2.13 ± 0.59		0.33 ± 0.32		1532.74 ± 422.12		21.83 ± 0.41	

b. Mes: Abril

Est.	Prof. Sed. (Nivel)	Densidad (x10 <sup>10</sup> cell/cm <sup>3</sup> )		Biovolumen (µm <sup>3</sup> /cell)		Biomasa (µgC/cm <sup>3</sup> )		Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )	
		Media	DS	Media	DS	Media	DS	Media	DS
1	1	1.88 ± 0.08		0.18 ± 0.45		763.59 ± 32.06		25.88	
	2	2.83 ± 0.12		0.12 ± 0.99		717.89 ± 29.12			
	3	2.50 ± 0.30		0.11 ± 0.17		582.73 ± 69.40			
	4	2.12 ± 0.30		0.12 ± 0.11		536.60 ± 75.54			
2	1	2.17 ± 0.06		0.11 ± 0.22		507.01 ± 14.76		32.81	
	2	3.06 ± 0.37		0.16 ± 0.31		1086.42 ± 131.55			
	3	2.25 ± 0.18		0.22 ± 0.21		1077.70 ± 85.65			
	4	2.43 ± 0.16		0.13 ± 0.15		696.94 ± 46.57			
4	1	1.87 ± 0.20		0.19 ± 0.26		785.84 ± 84.17		15.08	
	2	1.33 ± 0.27		0.51 ± 0.44		1486.36 ± 297.99			
	3	2.05 ± 0.15		0.28 ± 0.32		1242.34 ± 91.52			
	4	0.98 ± 0.15		0.33 ± 0.32		703.18 ± 111.07			

c. Mes: Junio

Est.	Prof. Sed.	Densidad ( $\times 10^{10}$ cell/cm <sup>3</sup> )		Biovolumen ( $\mu\text{m}^3$ /cell)		Biomasa ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ )		Clorofila ( $\mu\text{gChla}/\text{cm}^3$ )	
	(Nivel)	Media	DS	Media	DS	Media	DS	Media	DS
1	1	1.57	$\pm 0.15$	0.17	$\pm 0.13$	583.03	$\pm 56.28$	35.17	$\pm 10.52$
	2	0.95	$\pm 0.06$	0.13	$\pm 0.07$	269.47	$\pm 18.08$	19.17	$\pm 9.22$
	3	0.97	$\pm 0.11$	0.12	$\pm 0.08$	261.92	$\pm 30.12$	8.31	$\pm 2.72$
	4	0.63	$\pm 0.05$	0.09	$\pm 0.09$	119.93	$\pm 9.69$	6.23	$\pm 0.29$
2	1	1.02	$\pm 0.06$	0.12	$\pm 0.07$	271.44	$\pm 16.90$	52.15	$\pm 5.35$
	2	1.18	$\pm 0.13$	0.12	$\pm 0.06$	304.36	$\pm 33.49$	12.50	$\pm 1.62$
	3	0.89	$\pm 0.04$	0.06	$\pm 0.06$	121.85	$\pm 5.21$	9.97	$\pm 0.79$
	4	0.77	$\pm 0.17$	0.08	$\pm 0.05$	141.23	$\pm 30.75$	10.07	$\pm 0.62$
4	1	1.49	$\pm 0.03$	0.12	$\pm 0.08$	403.50	$\pm 8.58$	47.94	$\pm 17.49$
	2	1.52	$\pm 0.05$	0.09	$\pm 0.06$	290.53	$\pm 9.87$	26.19	$\pm 3.83$
	3	1.03	$\pm 0.01$	0.07	$\pm 0.05$	146.86	$\pm 1.13$	16.15	$\pm 0.41$
	4	0.74	$\pm 0.21$	0.07	$\pm 0.06$	119.15	$\pm 26.62$	14.50	$\pm 0.75$

d. Mes: Agosto

Est.	Prof. Sed.	Densidad ( $\times 10^{10}$ cell/cm <sup>3</sup> )		Biovolumen ( $\mu\text{m}^3$ /cell)		Biomasa ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ )		Clorofila ( $\mu\text{gChla}/\text{cm}^3$ )	
	(Nivel)	Media	DS	Media	DS	Media	DS	Media	DS
1	1	0.96	$\pm 0.15$	0.12	$\pm 0.07$	263.17	$\pm 40.10$	29.75	$\pm 4.89$
	2	0.79	$\pm 0.08$	0.08	$\pm 0.05$	144.25	$\pm 14.57$	22.27	$\pm 4.09$
	3	0.93	$\pm 0.15$	0.08	$\pm 0.05$	172.25	$\pm 27.99$	8.17	$\pm 0.82$
	4	1.16	$\pm 0.08$	0.07	$\pm 0.05$	187.00	$\pm 13.18$	7.02	$\pm 0.54$
2	1	1.20	$\pm 0.08$	0.14	$\pm 0.07$	365.02	$\pm 24.19$	36.51	$\pm 1.82$
	2	0.84	$\pm 0.06$	0.11	$\pm 0.05$	207.71	$\pm 15.19$	16.33	$\pm 3.28$
	3	0.58	$\pm 0.06$	0.10	$\pm 0.05$	125.54	$\pm 12.25$	10.91	$\pm 2.62$
	4	0.49	$\pm 0.04$	0.08	$\pm 0.04$	87.82	$\pm 7.04$	9.19	$\pm 0.93$
4	1	0.46	$\pm 0.02$	0.12	$\pm 0.05$	116.38	$\pm 5.05$	29.43	$\pm 4.32$
	2	0.54	$\pm 0.06$	0.12	$\pm 0.04$	140.68	$\pm 14.36$	28.19	$\pm 3.78$
	3	0.66	$\pm 0.15$	0.10	$\pm 0.05$	140.83	$\pm 32.07$	18.75	$\pm 4.55$
	4	0.50	$\pm 0.16$	0.07	$\pm 0.04$	79.73	$\pm 12.83$	12.03	$\pm 3.81$

e. Mes: Octubre

Est.	Prof. Sed.	Densidad ( $\times 10^9$ cell/cm <sup>3</sup> )		Biovolumen ( $\mu\text{m}^3$ /cell)		Biomasa ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ )		Clorofila ( $\mu\text{gChla}/\text{cm}^3$ )	
	(Nivel)	Media	DS	Media	DS	Media	DS	Media	DS
1	1	5.77	$\pm 0.59$	0.18	$\pm 0.10$	233.33	$\pm 24.00$	51.39	$\pm 0.15$
	2	5.13	$\pm 0.86$	0.17	$\pm 0.07$	186.26	$\pm 31.36$	24.80	$\pm 7.77$
	3	5.05	$\pm 0.62$	0.14	$\pm 0.06$	155.34	$\pm 18.96$	12.61	$\pm 6.54$
	4	4.47	$\pm 0.17$	0.13	$\pm 0.05$	123.96	$\pm 4.69$	8.58	$\pm 3.60$
2	1	5.56	$\pm 0.17$	0.14	$\pm 0.08$	165.78	$\pm 5.04$	19.29	$\pm 8.51$
	2	5.60	$\pm 0.69$	0.13	$\pm 0.06$	155.25	$\pm 19.10$	14.85	$\pm 2.52$
	3	6.01	$\pm 0.34$	0.11	$\pm 0.05$	146.71	$\pm 8.26$	12.62	$\pm 3.83$
	4	5.20	$\pm 0.93$	0.11	$\pm 0.04$	121.18	$\pm 21.71$	8.67	$\pm 0.77$
4	1	6.87	$\pm 0.50$	0.12	$\pm 0.04$	182.44	$\pm 13.20$	20.93	$\pm 6.51$
	2	7.35	$\pm 0.81$	0.12	$\pm 0.05$	195.17	$\pm 21.60$	21.86	$\pm 1.11$
	3	7.70	$\pm 1.58$	0.09	$\pm 0.04$	159.90	$\pm 32.84$	17.80	$\pm 2.45$
	4	5.24	$\pm 0.81$	0.09	$\pm 0.03$	103.24	$\pm 16.02$	17.32	$\pm 1.16$

f. Mes: Diciembre

Est.	Prof. Sed.	Densidad ( $\times 10^9$ cell/cm <sup>3</sup> )		Biovolumen ( $\mu\text{m}^3$ /cell)		Biomasa ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ )		Clorofila ( $\mu\text{gChla}/\text{cm}^3$ )	
	(Nivel)	Media	DS	Media	DS	Media	DS	Media	DS
1	1	8.42	$\pm 0.82$	0.15	$\pm 0.06$	270.02	$\pm 26.45$	81.16	$\pm 33.57$
	2	8.50	$\pm 1.58$	0.12	$\pm 0.05$	229.63	$\pm 42.63$	49.16	$\pm 20.91$
	3	8.42	$\pm 1.05$	0.11	$\pm 0.04$	205.50	$\pm 25.66$	17.17	$\pm 5.60$
	4	7.31	$\pm 0.68$	0.09	$\pm 0.03$	150.44	$\pm 14.07$	11.52	$\pm 1.64$
2	1	5.88	$\pm 1.54$	0.13	$\pm 0.05$	162.92	$\pm 42.54$	55.78	$\pm 11.83$
	2	5.37	$\pm 0.55$	0.13	$\pm 0.05$	148.36	$\pm 15.09$	32.79	$\pm 13.56$
	3	5.84	$\pm 0.79$	0.09	$\pm 0.05$	120.39	$\pm 16.37$	22.27	$\pm 5.64$
	4	5.28	$\pm 0.20$	0.09	$\pm 0.03$	104.08	$\pm 3.85$	16.01	$\pm 0.66$
4	1	4.51	$\pm 0.41$	0.12	$\pm 0.07$	123.29	$\pm 11.13$	78.28	$\pm 9.21$
	2	4.83	$\pm 0.32$	0.11	$\pm 0.05$	121.11	$\pm 7.94$	54.85	$\pm 13.86$
	3	5.02	$\pm 0.23$	0.09	$\pm 0.04$	98.34	$\pm 4.43$	42.17	$\pm 3.25$
	4	4.35	$\pm 0.72$	0.09	$\pm 0.04$	87.34	$\pm 14.53$	31.72	$\pm 0.21$

**Tabla 8.** Parámetros Oceanográficos: Oxígeno (mL.L<sup>-1</sup>), Temperatura (°C), y Salinidad (UPS) en las estaciones 1, 2 y 4 durante el muestreo bimensual en el año 2007.

Mes	Estación	Oxígeno (mL.L <sup>-1</sup> )	Temperatura (°C)	Salinidad (UPS)
Febrero	1 = 48 m	0.05	17.2	35.125
	2 = 93 m	0.04	15.9	35.086
	4 = 143 m	0.06	15.1	35.043
Abril	1 = 48 m	0.10	14.6	35.042
	2 = 93 m	0.09	14.2	35.002
	4 = 143 m	0.08	13.5	34.947
Junio	1 = 48 m	0.06	13.9	34.996
	2 = 93 m	0.05	13.8	34.979
	4 = 143 m	0.05	13.2	34.952
Agosto	1 = 48 m	0.07	14.1	34.994
	2 = 93 m	0.05	13.8	34.976
	4 = 143 m	0.04	12.9	34.925
Octubre	1 = 48 m	0.08	12.8	34.918
	2 = 93 m	0.06	12.8	34.919
	4 = 143 m	0.06	12.5	34.898
Diciembre	1 = 48 m		13.1	35.149
	2 = 93 m		13.0	34.950
	4 = 143 m		12.6	34.914

**Tabla 9.** Parámetros Sedimentarios: potencial redox (mV), COT (%), y clorofila superficial ( $\mu\text{gChla}$ /gramo de sedimento seco) en las estaciones 1, 2 y 4 durante el muestreo bimensual en el año 2007.

Mes	Estación	Potenical redox superficial (mV)	% COT superficial	Clorofila superficial ( $\mu\text{gChla}$ /gseco)
Febrero	1 = 48 m	83.4	3.0	488.83
	2 = 93 m	321.0	3.5	98.82
	4 = 143 m	595.2		169.68
Abril	1 = 48 m		2.7	136.45
	2 = 93 m		3.3	830.81
	4 = 143 m		5.3	214.25
Junio	1 = 48 m	134.1		151.42
	2 = 93 m	0.1		270.18
	4 = 143 m	147.0		348.34
Agosto	1 = 48 m	394.0	3.6	135.51
	2 = 93 m	388.9	3.3	254.50
	4 = 143 m		6.6	168.34
Octubre	1 = 48 m	45.3	4.1	182.97
	2 = 93 m	142.8	4.2	124.19
	4 = 143 m	340.4	7.1	82.88
Diciembre	1 = 48 m	-55.2	4.1	423.45
	2 = 93 m	7.5	4.2	246.13
	4 = 143 m		7.4	485.83

**Tabla 10.** Correlación entre las variables microbianas (densidad (cel./cm<sup>3</sup>), biovolumen (µm<sup>3</sup>/cel.), biomasa (µgC/cm<sup>3</sup>)) y los parámetros oceanográficos (oxígeno (mL.L<sup>-1</sup>), temperatura (°C) y salinidad (UPS)) del nivel 1 de todas las estaciones. (a) Prueba de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk. (b) Correlación de Spearman.

<b>(a) Prueba de Normalidad</b>							
	Nivel	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	p-value	Estadístico	gl	p-value
Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	1	,177	18	,200	,889	18	,022
Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> /cell)	1	,262	18	,007	,825	18	,006
Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	1	,161	18	,200	,914	18	,030
Oxígeno (mL.L <sup>-1</sup> )	1	,226	18	,038	,916	18	,165
Temperatura (°C)	1	,161	18	,200	,870	18	,018
Salinidad (UPS)	1	,156	18	,200	,913	18	,099

a. Corrección de la significancia de Lilliefors

(b) Correlación de Spearman <sup>a</sup>								
		Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> /cel.)	Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	Oxígeno (mL.L <sup>-1</sup> )	Temperatura (°C)	Salinidad (UPS)	
Rho de Spearman	Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	Coeficiente de correlación	1,000	,146	,923**	,163	,885**	,733**
		p-value	.	,563	,000	,562	,000	,001
	Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> /cel.)	Coeficiente de correlación	,146	1,000	,470*	,363	,138	,151
		p-value	,563	.	,049	,183	,585	,550
	Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	Coeficiente de correlación	,923**	,470*	1,000	,231	,814**	,676**
		p-value	,000	,049	.	,407	,000	,002
	Oxígeno (mL.L <sup>-1</sup> )	Coeficiente de correlación	,163	,363	,231	1,000	-,031	-,077
		p-value	,562	,183	,407	.	,913	,786
	Temperatura (°C)	Coeficiente de correlación	,885**	,138	,814**	-,031	1,000	,852**
		p-value	,000	,585	,000	,913	.	,000
	Salinidad (UPS)	Coeficiente de correlación	,733**	,151	,676**	-,077	,852**	1,000
		p-value	,001	,550	,002	,786	,000	.

\*\* . La correlación es significativa al nivel 0.01 (bilateral).

\* . La correlación es significativa al nivel 0.05 (bilateral).

a. Nivel = 1



**Tabla 11.** Correlación entre las variables microbianas (densidad (cel./cm<sup>3</sup>), biovolumen (µm<sup>3</sup>/cel.), biomasa (µgC/cm<sup>3</sup>) y los parámetros sedimentarios (potencial redox (mV), COT (%) y clorofila (µgChla/cm<sup>3</sup>)) del nivel 1 de todas las estaciones. (a) Prueba de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk. (b) Correlación de Spearman.

<b>(a) Prueba de Normalidad</b>							
	Nivel	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	p-value	Estadístico	gl	p-value
Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	1	,166	13	,200	,868	13	,049
Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> /cel.)	1	,191	13	,200	,883	13	,078
Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	1	,231	13	,057	,836	13	,019
Potencial redox (mV)	1	,214	13	,105	,927	13	,315
COT (%)	1	,281	14	,004	,853	14	,024
Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )	1	,204	18	,046	,885	18	,031

a. Corrección de la significancia de Lilliefors

<b>(b) Correlación de Spearman<sup>a</sup></b>							
		Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> /cel.)	Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	Potencial redox (mV)	COT(%)	Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )
Rho de Spearman	Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	Coeficiente de correlación	1,000	,146	,923**	,343	-,777**
		p-value	.	,563	,000	,252	,001
	Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> /cel.)	Coeficiente de correlación	,146	1,000	,470*	-,120	-,181
		p-value	,563	.	,049	,696	,536
	Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	Coeficiente de correlación	,923**	,470*	1,000	,280	-,732**
		p-value	,000	,049	.	,354	,003
	Potencial redox (mV)	Coeficiente de correlación	,343	-,120	,280	1,000	-,227
		p-value	,252	,696	,354	.	,557
	COT(%)	Coeficiente de correlación	-,777**	-,181	-,732**	-,227	1,000
		p-value	,001	,536	,003	,557	.
	Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )	Coeficiente de correlación	-,164	-,015	-,143	-,703**	-,207
		p-value	,514	,954	,570	,007	,477

\*\* . La correlación es significativa al nivel 0.01 (bilateral).

\* . La correlación es significativa al nivel 0.05 (bilateral).

a. Nivel = 1

**Tabla 12.** Correlación entre las variables microbianas (densidad (cel./cm<sup>3</sup>), biovolumen (µm<sup>3</sup>/cel.), biomasa (µgC/cm<sup>3</sup>)) y el parámetro sedimentario clorofila (µgChla/cm<sup>3</sup>) para todos los niveles de todas las estaciones. (a) Prueba de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk. (b) Correlación de Spearman.

<b>(a) Prueba de Normalidad</b>						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	p-value	Estadístico	gl	p-value
Densidad microbiana (cell/cm <sup>3</sup> )	,191	60	,000	,824	60	,000
Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> /cell)	,261	60	,000	,643	60	,000
Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	,275	60	,000	,575	60	,000
Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )	,221	60	,000	,798	60	,000

a. Corrección de la significancia de Lilliefors

<b>(b) Correlación de Spearman</b>						
		Densidad microbiana (cell/cm <sup>3</sup> )	Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> /cell)	Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )	
Rho de Spearman	Densidad microbiana (cell/cm <sup>3</sup> )	Coeficiente de correlación	1,000	,396**	,888**	-,057
		p-value		,001	,000	,666
	Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> /cell)	Coeficiente de correlación	,396**	1,000	,738**	,382**
		p-value	,001		,000	,003
	Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	Coeficiente de correlación	,888**	,738**	1,000	,150
		p-value	,000	,000		,253
	Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )	Coeficiente de correlación	-,057	,382**	,150	1,000
		p-value	,666	,003	,253	

\*\* . La correlación es significativa al nivel 0.01 (bilateral).

**Tabla 13.** Pruebas de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov, y Shapiro-Wilk para las variables microbianas (densidad (cel./cm<sup>3</sup>), biovolumen (µm<sup>3</sup>/cel.) biomasa (µgC/cm<sup>3</sup>)) y los parámetros oceanográficos (a) y sedimentarios (b). Estación 1 = 48 m.

<b>(a) Prueba de Normalidad<sup>b</sup></b>						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	p-value	Estadístico	gl	p-value
Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	,195	6	,200 <sup>*</sup>	,941	6	,672
Log <sub>10</sub> biovolumen (µm <sup>3</sup> /cel.)	,322	6	,098	,719	6	,015
Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	,235	6	,200 <sup>*</sup>	,884	6	,330
Oxígeno (mL.L <sup>-1</sup> )	,141	5	,200 <sup>*</sup>	,979	5	,928
Temperatura (°C)	,281	6	,200 <sup>*</sup>	,894	6	,376
Salinidad (UPS)	,199	6	,200 <sup>*</sup>	,966	6	,847

a. Corrección de la significación de Lilliefors.

\*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

b. Estación 1 = 48 m, Nivel 1

<b>(b) Prueba de Normalidad<sup>b</sup></b>						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	p-value	Estadístico	gl	p-value
Log <sub>10</sub> Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	,203	6	,200 <sup>*</sup>	,966	6	,847
Log <sub>10</sub> biovolumen (µm <sup>3</sup> /cel.)	,240	6	,200 <sup>*</sup>	,899	6	,403
Log <sub>10</sub> biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	,331	6	,078	,832	6	,144
Potencial redox (mV)	,267	5	,200 <sup>*</sup>	,907	5	,450
COT (%)	,227	5	,200 <sup>*</sup>	,883	5	,323
Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )	,233	6	,200 <sup>*</sup>	,869	6	,224

a. Corrección de la significación de Lilliefors.

\*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

b. Estación 1 = 48 m, Nivel 1

**Tabla 14.** Correlación de Pearson entre las variables microbianas (densidad (cel./cm<sup>3</sup>), biovolumen (µm<sup>3</sup>/cel.) biomasa (µgC/cm<sup>3</sup>)) y los parámetros oceanográficos (a) y sedimentarios (b). Estación 1 = 48 m.

<b>(a) Correlación de Pearson<sup>a</sup></b>							
		Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	Log <sub>10</sub> biovolumen (µm <sup>3</sup> /cel.)	Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	Oxígeno (mL.L <sup>-1</sup> )	Temperatura (°C)	Salinidad (UPS)
Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	1	,063	,895**	-,198	,844*	,416
	p-value		,769	,000	,749	,035	,412
Log <sub>10</sub> biovolumen (µm <sup>3</sup> /cel.)	Correlación de Pearson	,063	1	,442*	,133	,347	-,068
	p-value	,769		,030	,831	,500	,899
Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	,895**	,442*	1	-,138	,824*	,375
	p-value	,000	,030		,824	,044	,464
Oxígeno (mL.L <sup>-1</sup> )	Correlación de Pearson	-,198	,133	-,138	1	-,494	-,372
	p-value	,749	,831	,824		,398	,538
Temperatura (°C)	Correlación de Pearson	,844*	,347	,824*	-,494	1	,475
	p-value	,035	,500	,044	,398		,341
Salinidad (UPS)	Correlación de Pearson	,416	-,068	,375	-,372	,475	1
	p-value	,412	,899	,464	,538	,341	

\*\* . La correlación es significativa al nivel 0.01 (bilateral).

\* . La correlación es significativa al nivel 0.05 (bilateral).

a. Estación 1 = 48 m, Nivel 1

<b>(b) Correlación de Pearson<sup>a</sup></b>							
		Log <sub>10</sub> Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	Log <sub>10</sub> biovolumen (µm <sup>3</sup> /cel.)	Log <sub>10</sub> biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	Potencial redox (mV)	COT (%)	Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )
Log <sub>10</sub> Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	1	,399	,965**	,105	-,935*	,012
	p-value		,433	,002	,866	,020	,982
Log <sub>10</sub> biovolumen (µm <sup>3</sup> /cel.)	Correlación de Pearson	,399	1	,626	-,556	-,449	,141
	p-value	,433		,184	,330	,448	,789
Log <sub>10</sub> biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	,965**	,626	1	-,071	-,926*	,049
	p-value	,002	,184		,909	,024	,927
Potencial redox (mV)	Correlación de Pearson	,105	-,556	-,071	1	-,335	-,700
	p-value	,866	,330	,909		,665	,188
COT (%)	Correlación de Pearson	-,935*	-,449	-,926*	-,335	1	,220
	p-value	,020	,448	,024	,665		,722
Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	,012	,141	,049	-,700	,220	1
	p-value	,982	,789	,927	,188	,722	

\*\* . La correlación es significativa al nivel 0.01 (bilateral).

\* . La correlación es significativa al nivel 0.05 (bilateral).

a. Estación 1 = 48 m, Nivel 1

**Tabla 15.** Pruebas de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov, y Shapiro-Wilk para las variables microbianas (densidad (cel./cm<sup>3</sup>), biovolumen (µm<sup>3</sup>/cel.) biomasa (µgC/cm<sup>3</sup>)) y los parámetros oceanográficos (a) y sedimentarios (b). Estación 2 = 93 m.

<b>(a) Prueba de Normalidad<sup>b</sup></b>						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	p-value	Estadístico	gl	p-value
Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	,237	5	,200*	,898	5	,401
Log <sub>10</sub> biovolumen (µm <sup>3</sup> /cel.)	,238	5	,200*	,854	5	,206
Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	,216	5	,200*	,929	5	,587
Oxígeno (mL.L <sup>-1</sup> )	,261	5	,200*	,859	5	,223
Temperatura (°C)	,265	5	,200*	,909	5	,460
Salinidad (UPS)	,237	5	,200*	,936	5	,639

a. Corrección de la significación de Lilliefors.

\*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

b. Estación 2 = 93 m, Nivel 1

<b>(b) Prueba de Normalidad<sup>b</sup></b>						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	p-value	Estadístico	gl	p-value
Log <sub>10</sub> Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	,220	5	,200*	,922	5	,540
Log <sub>10</sub> biovolumen (µm <sup>3</sup> /cel.)	,181	5	,200*	,940	5	,665
Log <sub>10</sub> biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	,232	5	,200*	,911	5	,471
Potencial redox (mV)	,222	5	,200*	,881	5	,313
COT (%)	,267	5	,200*	,773	5	,048
Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )	,185	5	,200*	,911	5	,445

a. Corrección de la significación de Lilliefors.

\*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

b. Estación 2 = 93 m, Nivel 1

**Tabla 16.** Correlación de Pearson entre las variables microbianas (densidad (cel./cm<sup>3</sup>), biovolumen (µm<sup>3</sup>/cel.) biomasa (µgC/cm<sup>3</sup>)) y los parámetros oceanográficos (a) y sedimentarios (b). Estación 2 = 93 m.

<b>(a) Correlación de Pearson<sup>a</sup></b>							
		Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	Log <sub>10</sub> biovolumen (µm <sup>3</sup> /cel.)	Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	Oxígeno (mL.L <sup>-1</sup> )	Temperatura (°C)	Salinidad (UPS)
Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	1	,529**	,923**	,277	,852*	,849*
	p-value		,008	,000	,652	,031	,032
Log <sub>10</sub> biovolumen (µm <sup>3</sup> /cel.)	Correlación de Pearson	,529**	1	,756**	-,267	-,737	-,771
	p-value	,008		,000	,664	,094	,073
Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	,923**	,756**	1	,236	,837*	,827*
	p-value	,000	,000		,702	,038	,042
Oxígeno (mL.L <sup>-1</sup> )	Correlación de Pearson	,277	-,267	,236	1	-,310	-,276
	p-value	,652	,664	,702		,612	,653
Temperatura (°C)	Correlación de Pearson	,852*	-,737	,837*	-,310	1	,993**
	p-value	,031	,094	,038	,612		,000
Salinidad (UPS)	Correlación de Pearson	,849*	-,771	,827*	-,276	,993**	1
	p-value	,032	,073	,042	,653	,000	

\*\* . La correlación es significativa al nivel 0.01 (bilateral).

\* . La correlación es significativa al nivel 0.05 (bilateral).

a. Estación 2 = 93 m, Nivel 1

<b>(b) Correlación de Pearson<sup>a</sup></b>							
		Log <sub>10</sub> Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	Log <sub>10</sub> biovolumen (µm <sup>3</sup> /cel.)	Log <sub>10</sub> biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	Potencial redox (mV)	COT (%)	Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )
Log <sub>10</sub> Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	1	-,765	,990**	,645	-,891*	-,308
	p-value		,076	,000	,240	,042	,552
Log <sub>10</sub> biovolumen (µm <sup>3</sup> /cel.)	Correlación de Pearson	-,765	1	-,668	,026	,416	,129
	p-value	,076		,147	,967	,487	,808
Log <sub>10</sub> biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	,990**	-,668	1	,730	-,941*	-,328
	p-value	,000	,147		,161	,017	,525
Potencial redox (mV)	Correlación de Pearson	,645	,026	,730	1	-,948	-,633
	p-value	,240	,967	,161		,052	,252
COT (%)	Correlación de Pearson	-,891*	,416	-,941*	-,948	1	,204
	p-value	,042	,487	,017	,052		,743
Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	-,308	,129	-,328	-,633	,204	1
	p-value	,552	,808	,525	,252	,743	

\*\* . La correlación es significativa al nivel 0.01 (bilateral).

\* . La correlación es significativa al nivel 0.05 (bilateral).

a. Estación 2 = 93 m, Nivel 1



**Tabla 17.** Pruebas de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov, y Shapiro-Wilk para las variables microbianas (densidad (cel./cm<sup>3</sup>), biovolumen (µm<sup>3</sup>/cel.) biomasa (µgC/cm<sup>3</sup>)) y los parámetros oceanográficos (a) y sedimentarios (b). Estación 4 = 143 m.

<b>(a) Prueba de Normalidad<sup>b</sup></b>						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	p-value	Estadístico	gl	p-value
Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	,210	6	,200*	,910	6	,468
Log <sub>10</sub> biovolumen (µm <sup>3</sup> /cel.)	,328	6	,083	,755	6	,033
Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	,217	6	,200*	,889	6	,350
Oxígeno (mL.L <sup>-1</sup> )	,246	5	,200*	,956	5	,777
Temperatura (°C)	,276	6	,200*	,879	6	,303
Salinidad (UPS)	,307	6	,138	,886	6	,338

a. Corrección de la significación de Lilliefors.

\*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

b. Estación 4 = 143 m, Nivel 1

<b>(b) Prueba de Normalidad<sup>b</sup></b>						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	p-value	Estadístico	gl	p-value
Log <sub>10</sub> Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	,271	6	.	,824	6	,152
Log <sub>10</sub> biovolumen (µm <sup>3</sup> /cel.)	,393	6	.	,742	6	,033
Log <sub>10</sub> biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	,321	6	.	,788	6	,082
Potencial redox (mV)	,250	6	.	,903	6	,447
COT (%)	,290	4	.	,867	4	,216
Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )	,290	6	.	,867	6	,216

a. Corrección de la significación de Lilliefors.

\*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

b. Estación 4 = 143 m, Nivel 1

**Tabla 18.** Correlación de Pearson entre las variables microbianas (densidad (cel./cm<sup>3</sup>), biovolumen (µm<sup>3</sup>/cel.) biomasa (µgC/cm<sup>3</sup>)) y los parámetros oceanográficos (a) y sedimentarios (b). Estación 4 = 143 m.

(a) Correlación de Pearson <sup>a</sup>							
		Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	Log <sub>10</sub> biovolumen (µm <sup>3</sup> /cel.)	Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	Oxígeno (mL.L <sup>-1</sup> )	Temperatura (°C)	Salinidad (UPS)
Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	1	,700**	,834**	,620	,838*	,813*
	p-value		,000	,000	,264	,037	,049
Log <sub>10</sub> biovolumen (µm <sup>3</sup> /cel.)	Correlación de Pearson	,700**	1	,908**	,765	,805	,733
	p-value	,000		,000	,132	,053	,098
Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	,834**	,908**	1	,686	,870*	,822*
	p-value	,000	,000		,201	,024	,044
Oxígeno (mL.L <sup>-1</sup> )	Correlación de Pearson	,620	,765	,686	1	,243	,139
	p-value	,264	,132	,201		,694	,824
Temperatura (°C)	Correlación de Pearson	,838*	,805	,870*	,243	1	,989**
	p-value	,037	,053	,024	,694		,000
Salinidad (UPS)	Correlación de Pearson	,813*	,733	,822*	,139	,989**	1
	p-value	,049	,098	,044	,824	,000	

\*\* . La correlación es significativa al nivel 0.01 (bilateral).

\* . La correlación es significativa al nivel 0.05 (bilateral).

a. Estación 4 = 143 m, Nivel 1

<b>(b) Correlación de Pearson<sup>a</sup></b>						
		Log <sub>10</sub> Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	Log <sub>10</sub> biovolumen (µm <sup>3</sup> /cel.)	Log <sub>10</sub> biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	COT (%)	Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )
Log <sub>10</sub> Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	1	,813*	,988**	-,881	-,452
	p-value		,049	,000	,119	,368
Log <sub>10</sub> biovolumen (µm <sup>3</sup> /cel.)	Correlación de Pearson	,813*	1	,892*	-,884	-,436
	p-value	,049		,017	,116	,387
Log <sub>10</sub> biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	,988**	,892*	1	-,893	-,461
	p-value	,000	,017		,107	,357
COT (%)	Correlación de Pearson	-,881	-,884	-,893	1	,667
	p-value	,119	,116	,107		,333
Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	-,452	-,436	-,461	,667	1
	p-value	,368	,387	,357	,333	

\*\* . La correlación es significativa al nivel 0.01 (bilateral).

\* . La correlación es significativa al nivel 0.05 (bilateral).

a. Estación 4 = 143 m, Nivel 1

**Tabla 19.** Correlación entre las variables microbianas (densidad (cel./cm<sup>3</sup>), biovolumen (µm<sup>3</sup>/cel.), biomasa (µgC/cm<sup>3</sup>) y clorofila (µgChla/cm<sup>3</sup>) para todos los niveles de cada estación. (a) Prueba de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk. (b) Correlación de Spearman.

<b>(a) Prueba de Normalidad</b>							
Profundidad_oceánica		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
48	Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	,257	21	,001	,870	21	,009
	Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> /cel.)	,148	21	,200*	,930	21	,137
	Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	,296	21	,000	,804	21	,001
	Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )	,219	21	,010	,777	21	,000
93	Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	,233	21	,004	,792	21	,000
	Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> /cel.)	,165	21	,142	,905	21	,044
	Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	,271	21	,000	,796	21	,001
	Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )	,237	21	,003	,779	21	,000
143	Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	,278	21	,000	,802	21	,001
	Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> /cel.)	,362	21	,000	,670	21	,000
	Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	,324	21	,000	,635	21	,000
	Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )	,222	21	,008	,790	21	,000

a. Corrección de la significación de Lilliefors.

\*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

(b) Correlación de Spearman									
			Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> /cel.)	Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )			
48	Rho de Spearman	Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	1,000	-,041	,858**	,051		
			p-value	.	,849	,000	,827		
		Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> /cel.)	Correlación de Pearson	-,041	1,000	,439*	,684**		
			p-value	,849	.	,032	,001		
		Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	,858**	,439*	1,000	,469*		
			p-value	,000	,032	.	,032		
		Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	,051	,684**	,469*	1,000		
			p-value	,827	,001	,032	.		
		93	Rho de Spearman	Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	1,000	,478*	,888**	,214
					p-value	.	,018	,000	,351
Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> /cel.)	Correlación de Pearson			,478*	1,000	,795**	,368		
	p-value			,018	.	,000	,100		
Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson			,888**	,795**	1,000	,316		
	p-value			,000	,000	.	,163		
Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson			,214	,368	,316	1,000		
	p-value			,351	,100	,163	.		
143	Rho de Spearman			Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	1,000	,570**	,903**	-,345
					p-value	.	,004	,000	,125
		Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> /cel.)	Correlación de Pearson	,570**	1,000	,818**	,264		
			p-value	,004	.	,000	,247		
		Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	,903**	,818**	1,000	-,062		
			p-value	,000	,000	.	,788		
		Clorofila (µgChla/cm <sup>3</sup> )	Correlación de Pearson	-,345	,264	-,062	1,000		
			p-value	,125	,247	,788	.		

\*\* . La correlación es significativa al nivel 0.01 (bilateral).

\* . La correlación es significativa al nivel 0.05 (bilateral).

**Tabla 20.** Pruebas estadísticas de U Mann Whitney para comparar los valores de las variables microbianas de densidad (cel./cm<sup>3</sup>), biovolumen (µm<sup>3</sup>/cel.) y biomasa (µgC/cm<sup>3</sup>) respecto a su profundidad en el sedimento. Se comparó el nivel 1 vs el nivel 4 de cada estación.

Comparación nivel 1 versus nivel 4				
				Conclusión
Estación 1 48 m	Densidad Microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	U Mann Whitney	135.500	N1=N4
		p-value (bilateral)	0.402	
	Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> /cel.)	U Mann Whitney	9.000	N1>N4
		p-value (bilateral)	0.000	
	Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	U Mann Whitney	60.000	N1>N4
		p-value (bilateral)	0.001	
Estación 2 93 m	Densidad Microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	U Mann Whitney	130.500	N1=N4
		p-value (bilateral)	0.319	
	Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> /cel.)	U Mann Whitney	72.000	N1>N4
		p-value (bilateral)	0.004	
	Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	U Mann Whitney	110.000	N1=N4
		p-value (bilateral)	0.100	
Estación 4 143 m	Densidad Microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	U Mann Whitney	70.500	N1=N4
		p-value (bilateral)	0.473	
	Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> /cel.)	U Mann Whitney	65.000	N1=N4
		p-value (bilateral)	0.313	
	Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	U Mann Whitney	59.000	N1=N4
		p-value (bilateral)	0.191	

**Tabla 21.** Prueba estadística de Kruskal Wallis para comparar por profundidad los valores de las variables microbianas de densidad (cel./cm<sup>3</sup>), biovolumen (µm<sup>3</sup>/cel.) y biomasa (µgC/cm<sup>3</sup>). (a) Tabla de rangos. (b) Prueba estadística.

<b>(a) Rangos promedio del nivel 1 para cada profundidad</b>			
	Profundidad oceánica (m)	N	Rango promedio
Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	48	18	26,39
	93	18	25,39
	143	13	22,54
	Total	49	
Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> /cel.)	48	18	34,00
	93	18	15,33
	143	13	25,92
	Total	49	
Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )	48	18	29,78
	93	18	21,06
	143	13	23,85
	Total	49	

<b>(b) Prueba Estadística<sup>a,b,c</sup></b>			
	Densidad microbiana (cel./cm <sup>3</sup> )	Biovolumen microbiano (µm <sup>3</sup> /cel.)	Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>3</sup> )
Chi-cuadrado	,569	15,534	3,469
df	2	2	2
Asymp. Sig.	,752	,000	,176

a. Nivel = 1

b. Kruskal Wallis Test

c. Variable de agrupación: profundidad oceánica

**Tabla 22.** Prueba estadística de Kruskal Wallis para comparar por profundidad los valores integrados de las variables microbianas de densidad (cel./cm<sup>2</sup>), y biomasa (µgC/cm<sup>2</sup>). (a) Tabla de rangos. (b) Prueba estadística.

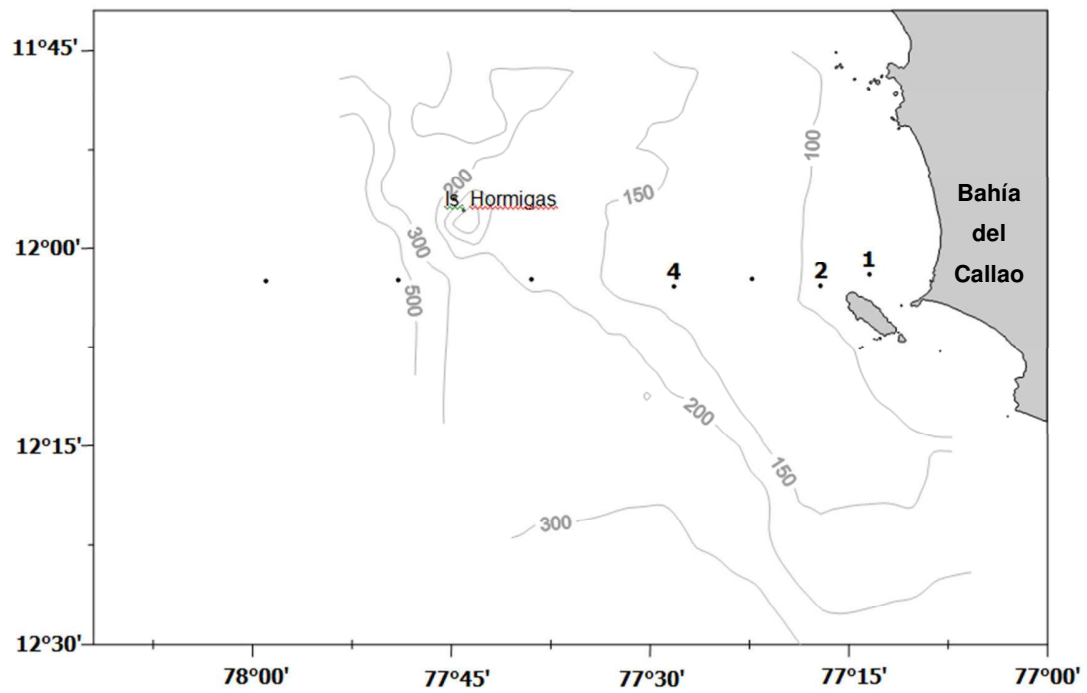
<b>(a) Rangos promedio de los valores integrados para cada profundidad</b>			
	Profundidad oceánica (m)	N	Rango promedio
Densidad microbiana (cel./cm <sup>2</sup> )	48	18	27,39
	93	18	24,22
	143	13	22,77
	Total	49	
Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>2</sup> )	48	18	28,44
	93	18	22,28
	143	13	24,00
	Total	49	

<b>(b) Prueba Estadística<sup>a,b</sup></b>		
	Densidad microbiana (cel./cm <sup>2</sup> )	Biomasa microbiana (µgC/cm <sup>2</sup> )
Chi-cuadrado	,873	1,763
df	2	2
Asymp. Sig.	,646	,414

a. Kruskal Wallis Test

b. Variable de agrupación: profundidad oceánica

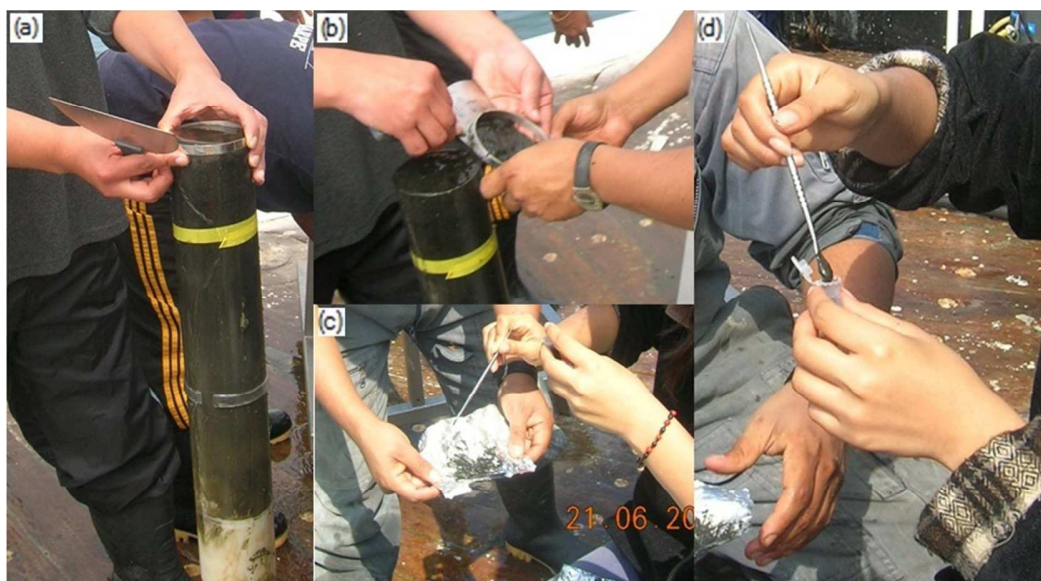




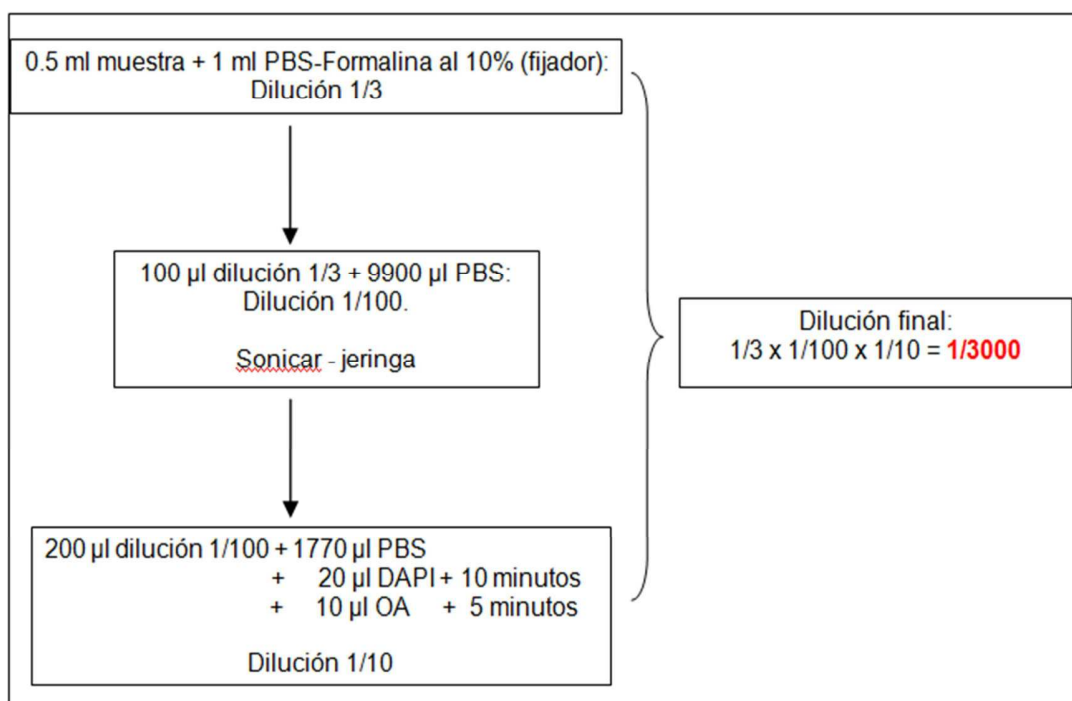
**Figura 12.** Mapa del área de estudio. Las estaciones se ubican en un transecto perpendicular a la costa. Se señalan las estaciones de estudio: 1, 2 y 4.



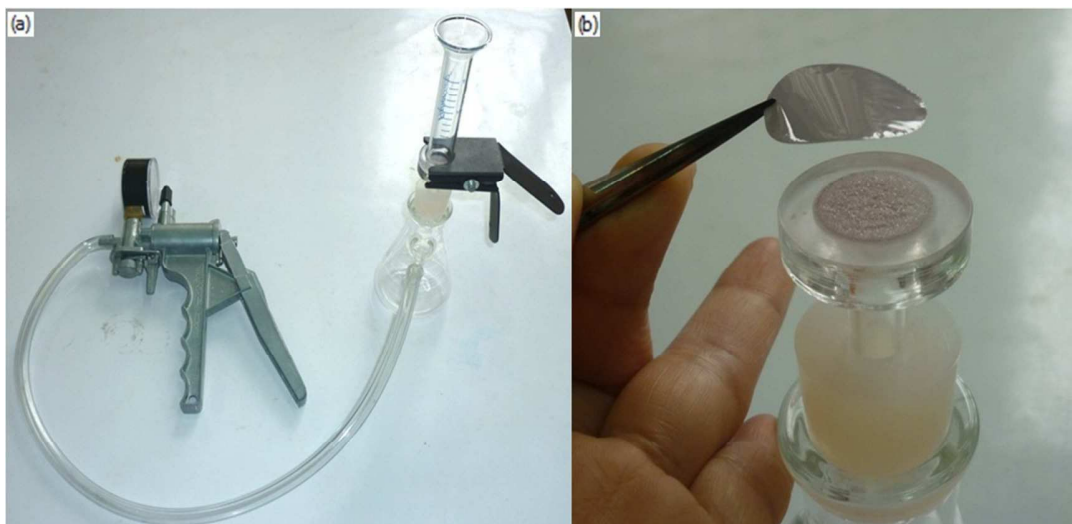
**Figura 13.** Fotografía del mini-multisacatestigos de 4 tubos Oktopus durante labores de muestreo. Se lanzan los tubos abiertos y el cierre es automático al tocar el fondo.



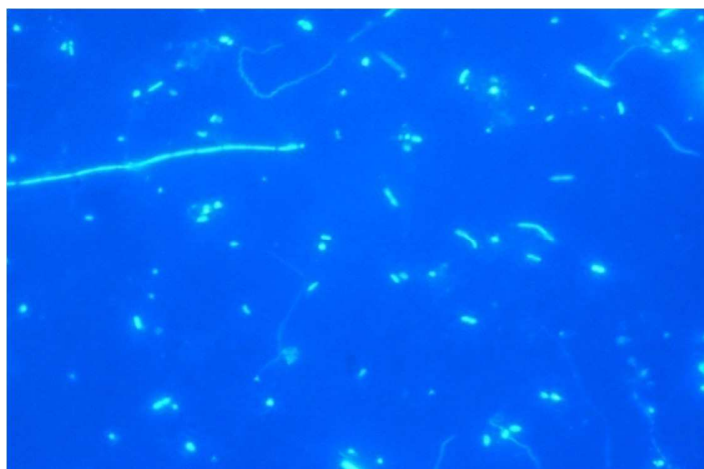
**Figura 14.** Labores de muestreo para el análisis de microorganismos. (a) y (b) seccionamiento de los niveles de sedimento con la ayuda de un anillo metálico y espátula. (c) Homogenización del nivel seccionado. (d) Fijación de 0,5 cm<sup>3</sup> de sedimento homogenizado en 1,5 cm<sup>3</sup> de PBS-formalina.



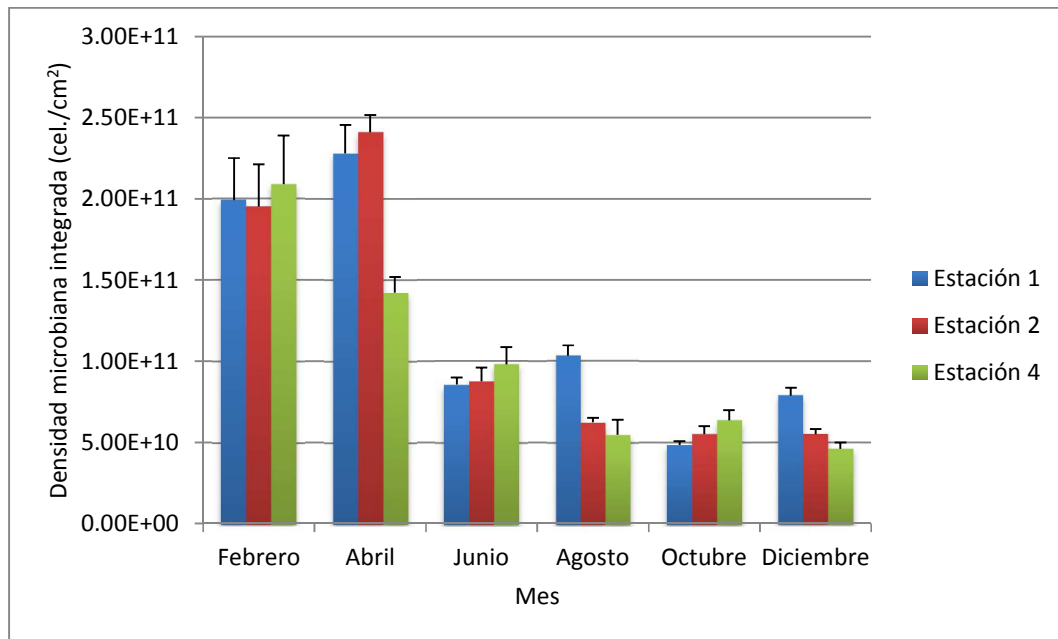
**Figura 15.** Esquema del protocolo de trabajo del procesamiento de muestras.



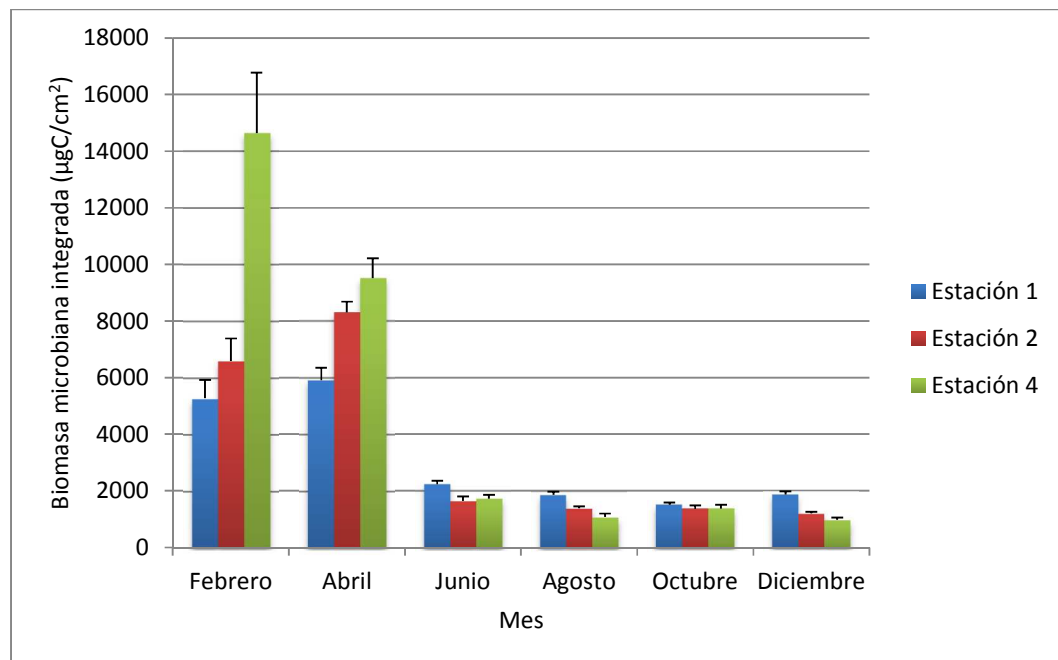
**Figura 16.** (a) Equipo manual de filtración. (b) Colocación de la membrana oscura en el soporte poroso.



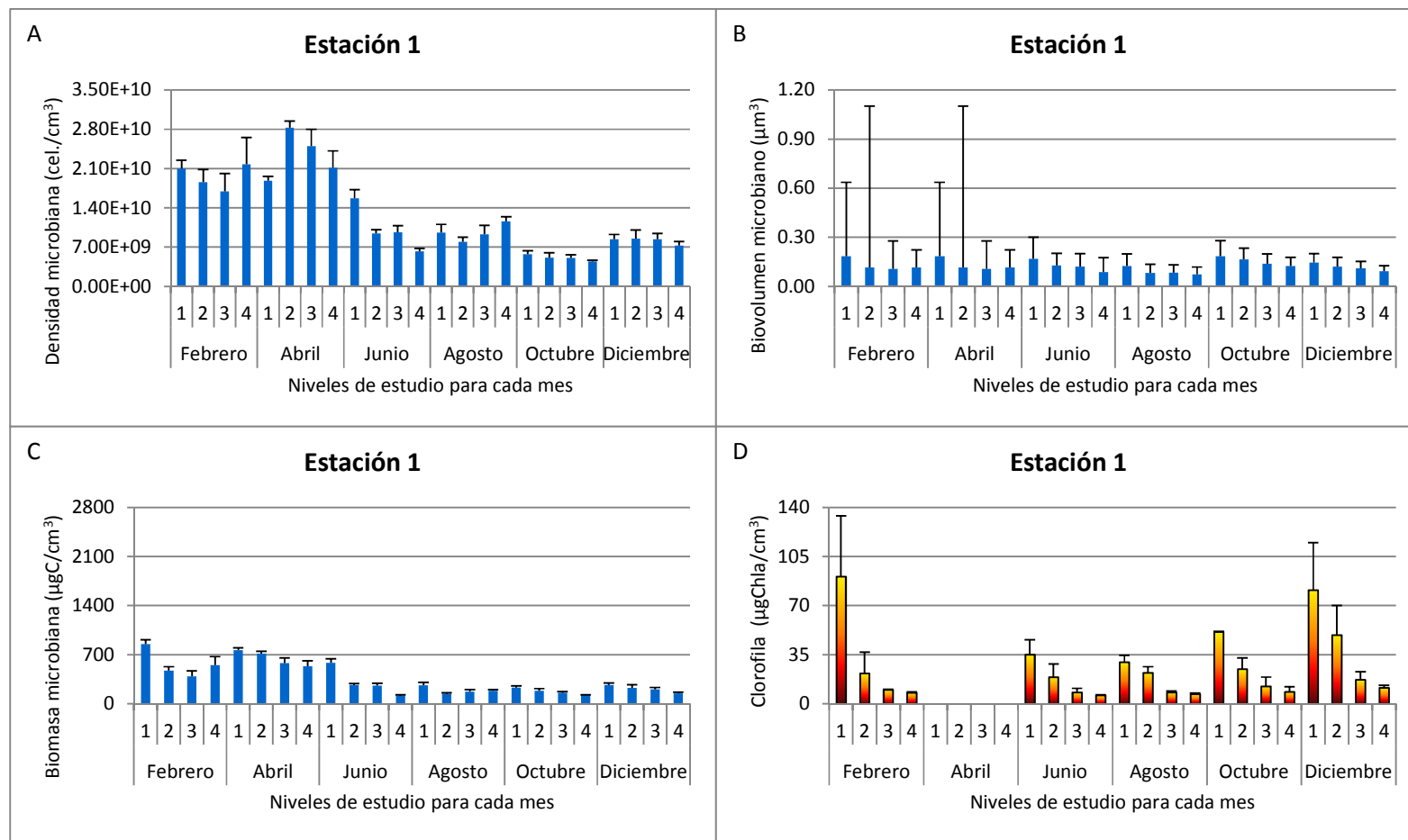
**Figura 17.** Microfotografía, tomada con cámara digital, de muestras con doble tinción DAPI – Naranja de acridina.



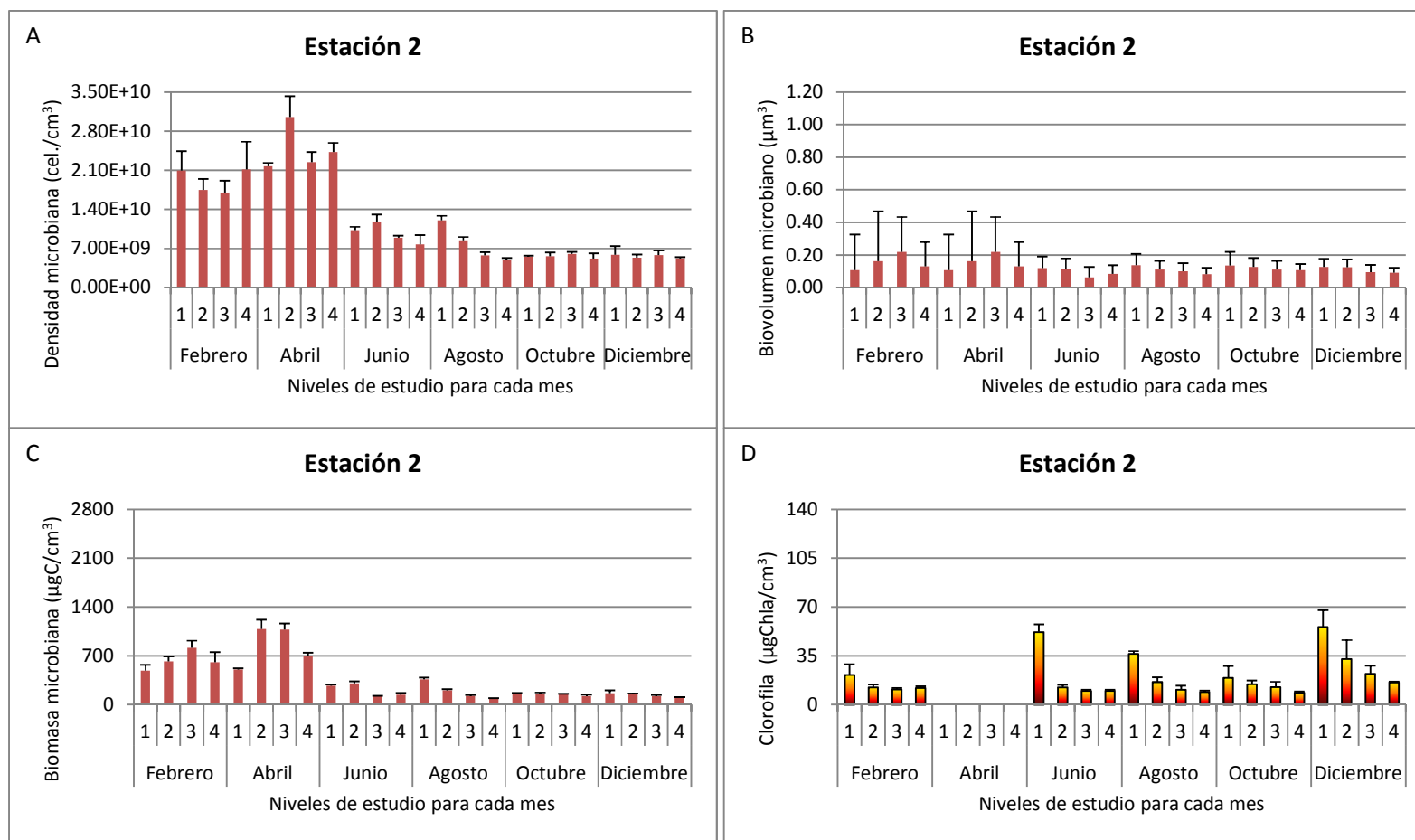
**Figura 18.** Valores integrados de densidad microbiana (cel./cm<sup>2</sup>) en las estaciones 1, 2 y 4 durante los meses de febrero, abril, junio, agosto, octubre y diciembre del 2007.



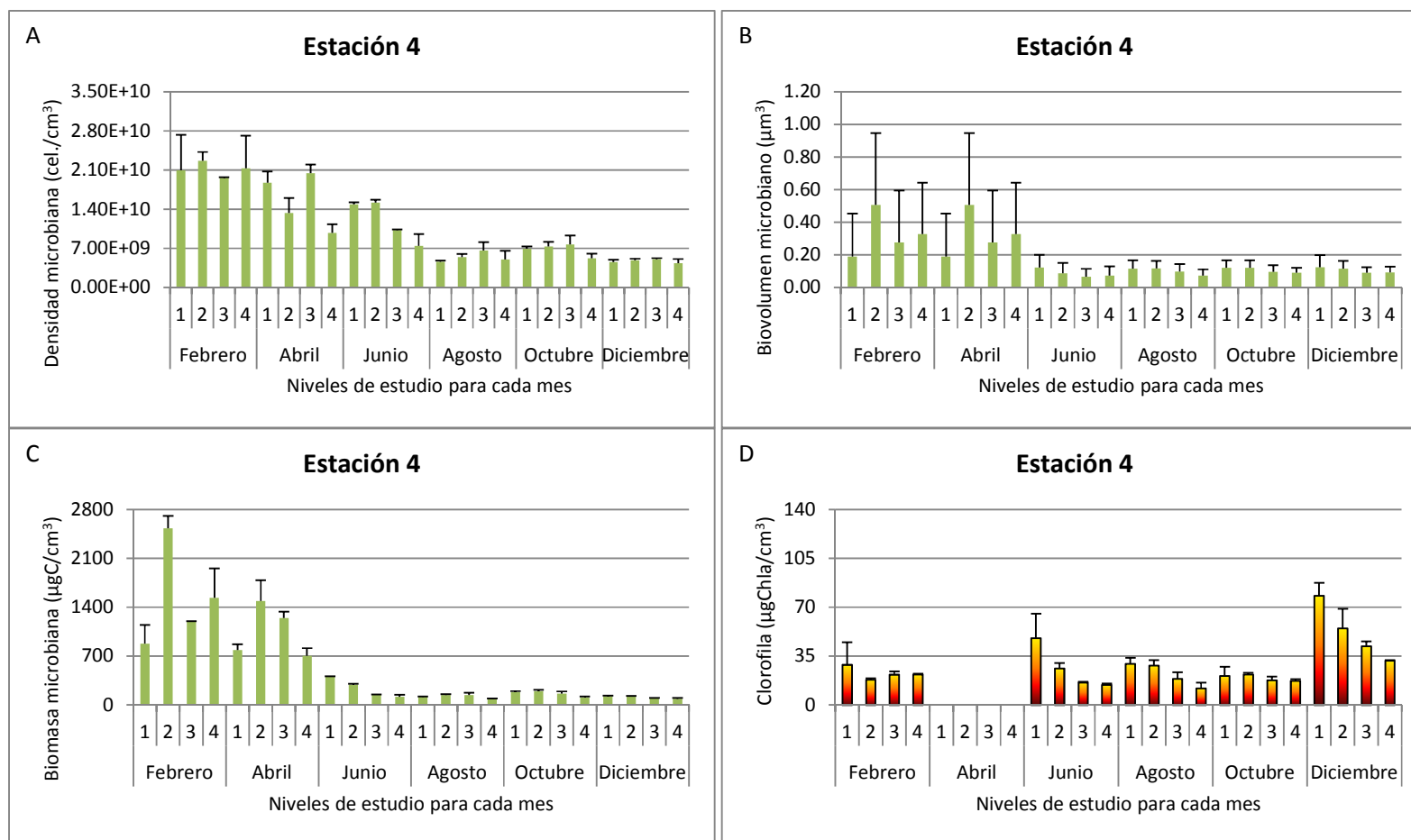
**Figura 19.** Valores integrados de biomasa microbiana (cel./cm<sup>2</sup>) en las estaciones 1, 2 y 4 durante los meses de febrero, abril, junio, agosto, octubre y diciembre del 2007.



**Figura 20.** Resultados por niveles para la estación 1 durante los meses de estudio. (A) Densidad microbiana (cel./cm<sup>3</sup>). (B) Biovolumen microbiano (μm<sup>3</sup>). (C) Biomasa microbiana (μgC/cm<sup>3</sup>). (D) Clorofila (μgChla/cm<sup>3</sup>).

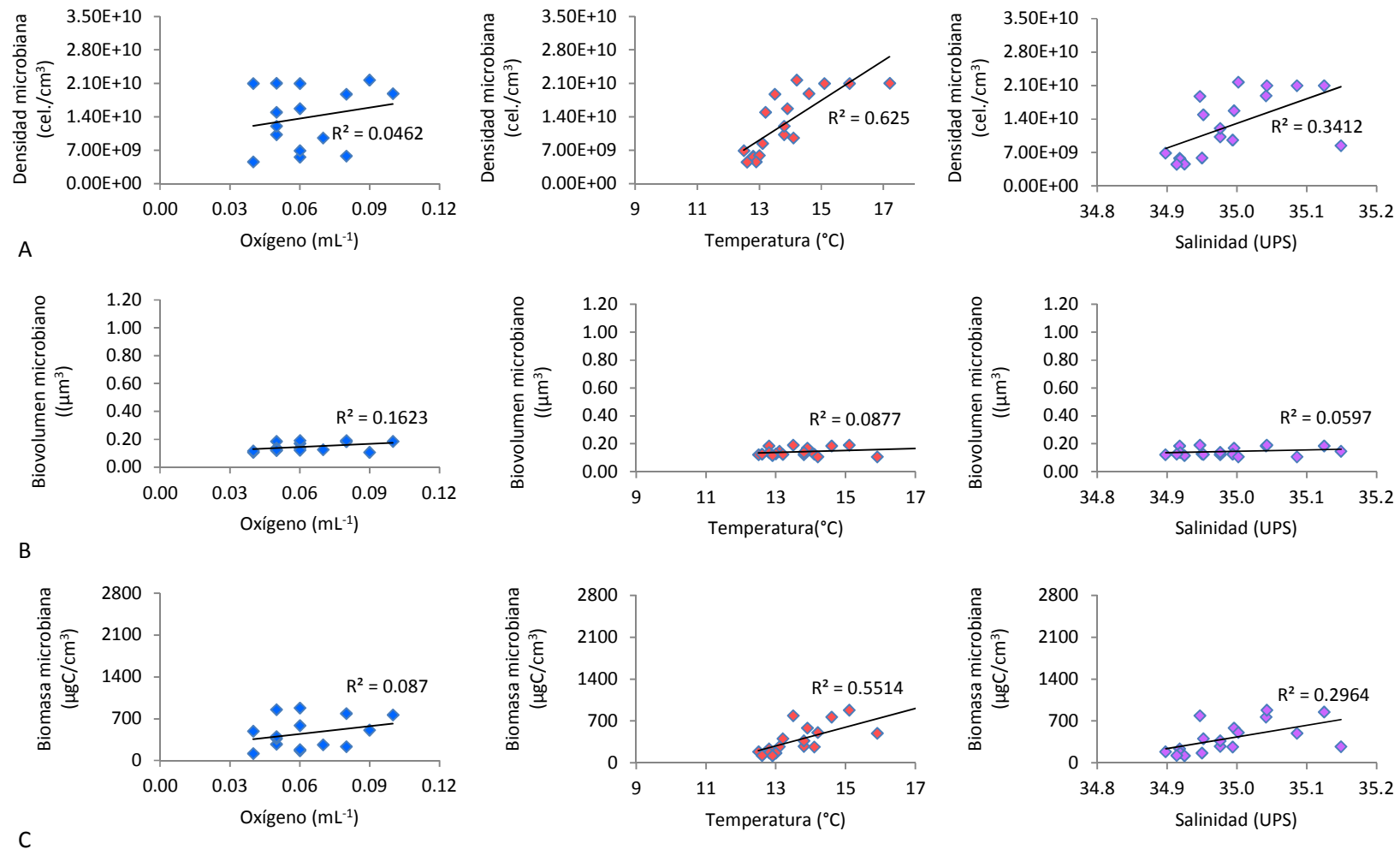


**Figura 21.** Resultados por niveles para la estación 2 durante los meses de estudio. (A) Densidad microbiana (cel./cm<sup>3</sup>). (B) Biovolumen microbiano (μm<sup>3</sup>). (C) Biomasa microbiana (μgC/cm<sup>3</sup>). (D) Clorofila (μgChla/cm<sup>3</sup>).

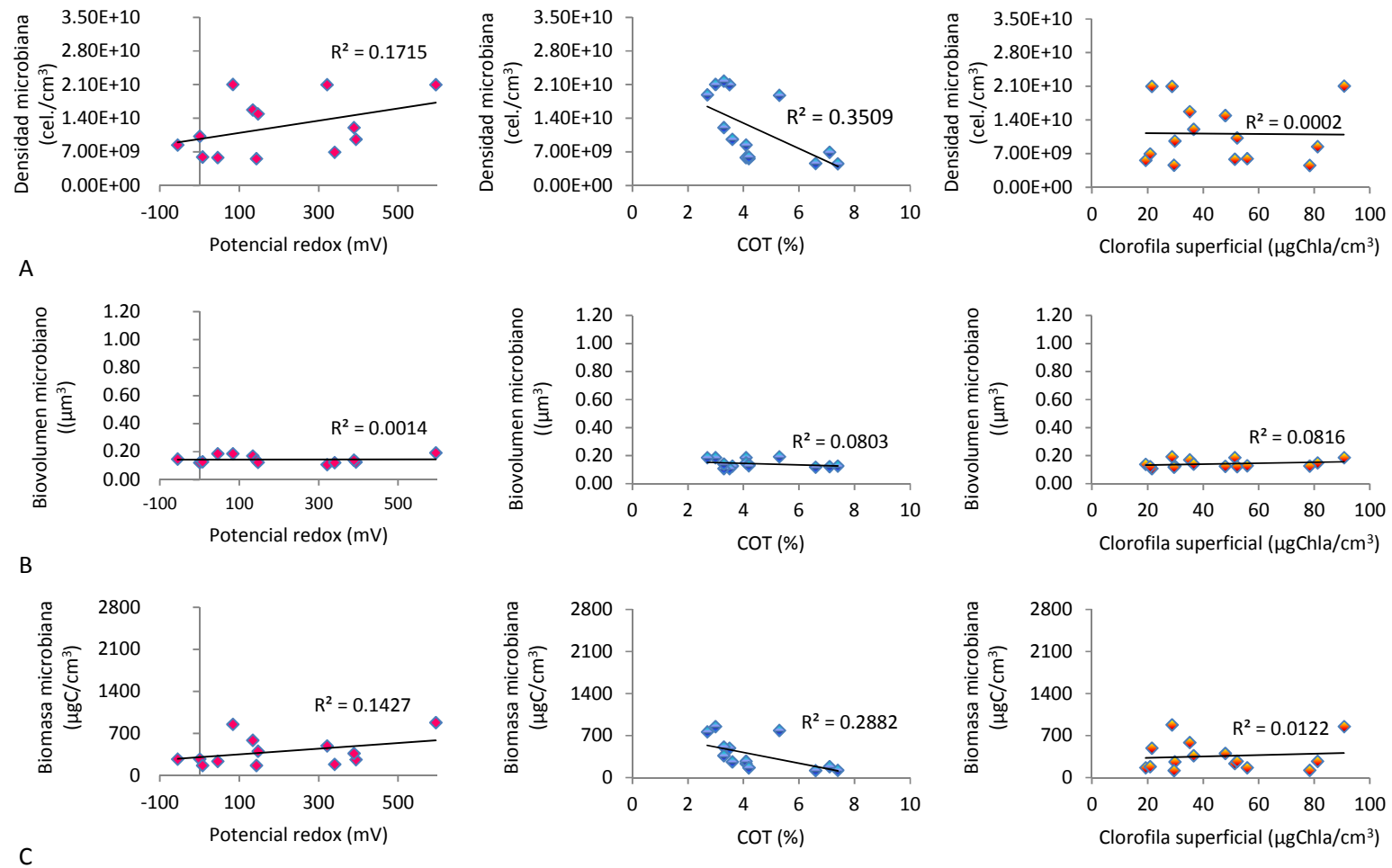


**Figura 22.** Resultados por niveles para la estación 4 durante los meses de estudio. (A) Densidad microbiana (cel./cm<sup>3</sup>). (B) Biovolumen microbiano (μm<sup>3</sup>). (C) Biomasa microbiana (μgC/cm<sup>3</sup>). (D) Clorofila (μgChla/cm<sup>3</sup>).

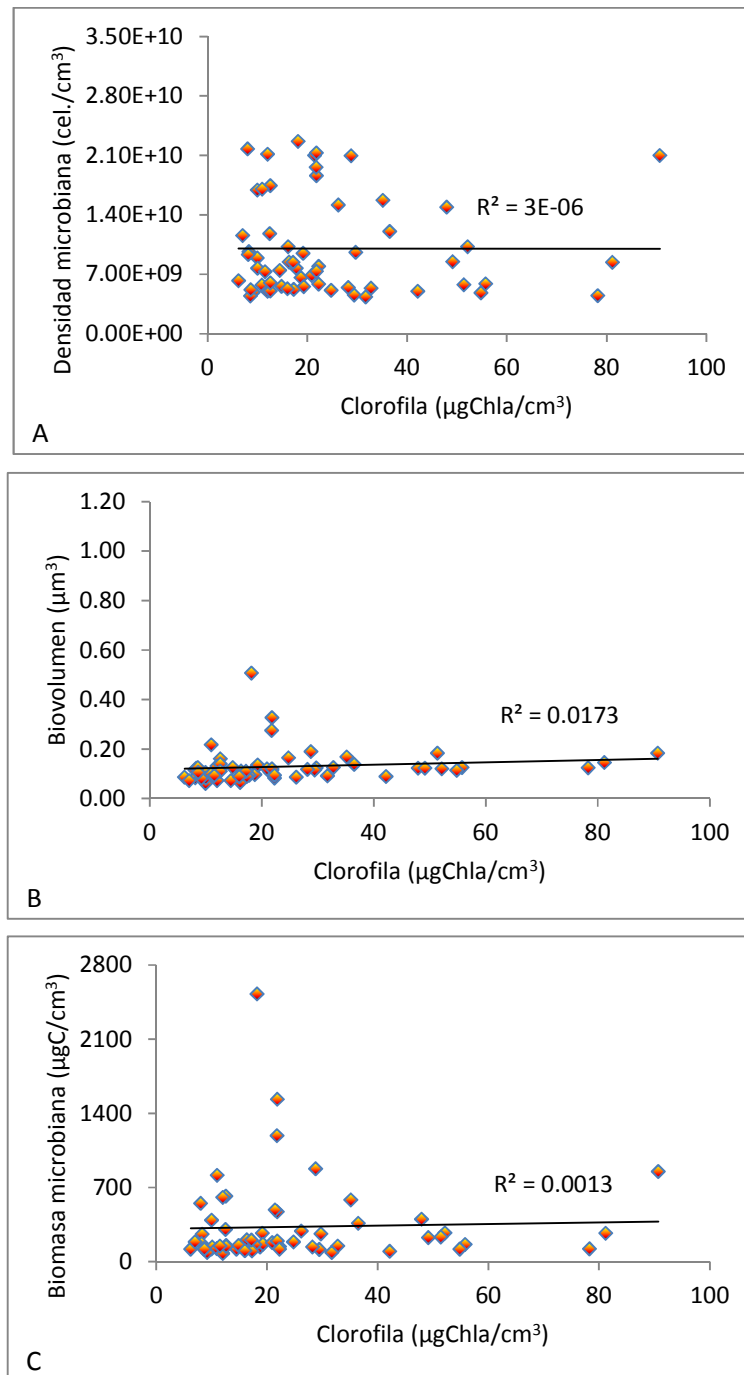




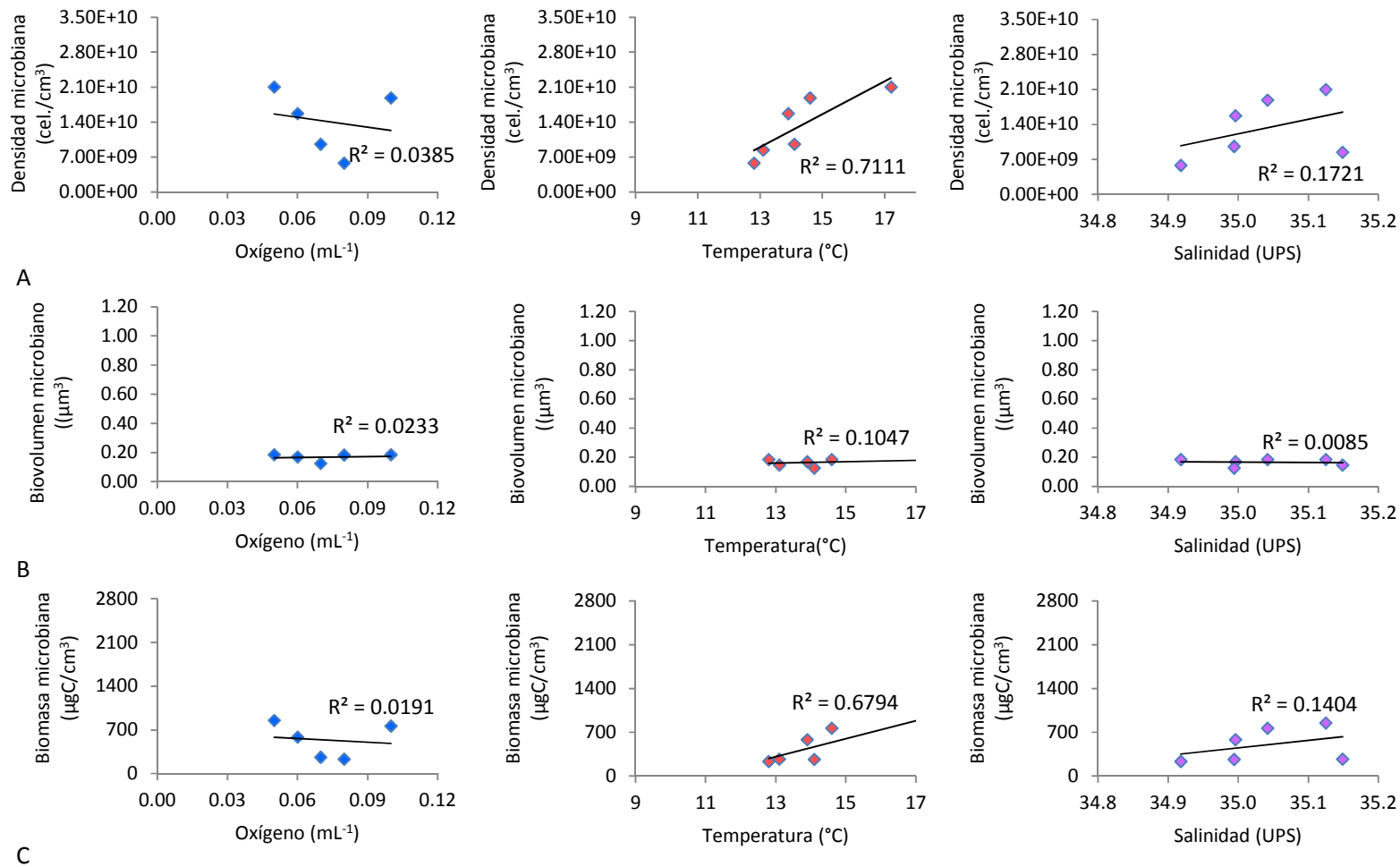
**Figura 23.** Gráfico de dispersión de puntos entre todos los valores de las variables microbianas encontrados en el nivel 1 y los parámetros oceanográficos. (A) Densidad microbiana (cel./cm<sup>3</sup>). (B) Biovolumen microbiano (μm<sup>3</sup>). (C) Biomasa microbiana (μgC/cm<sup>3</sup>).



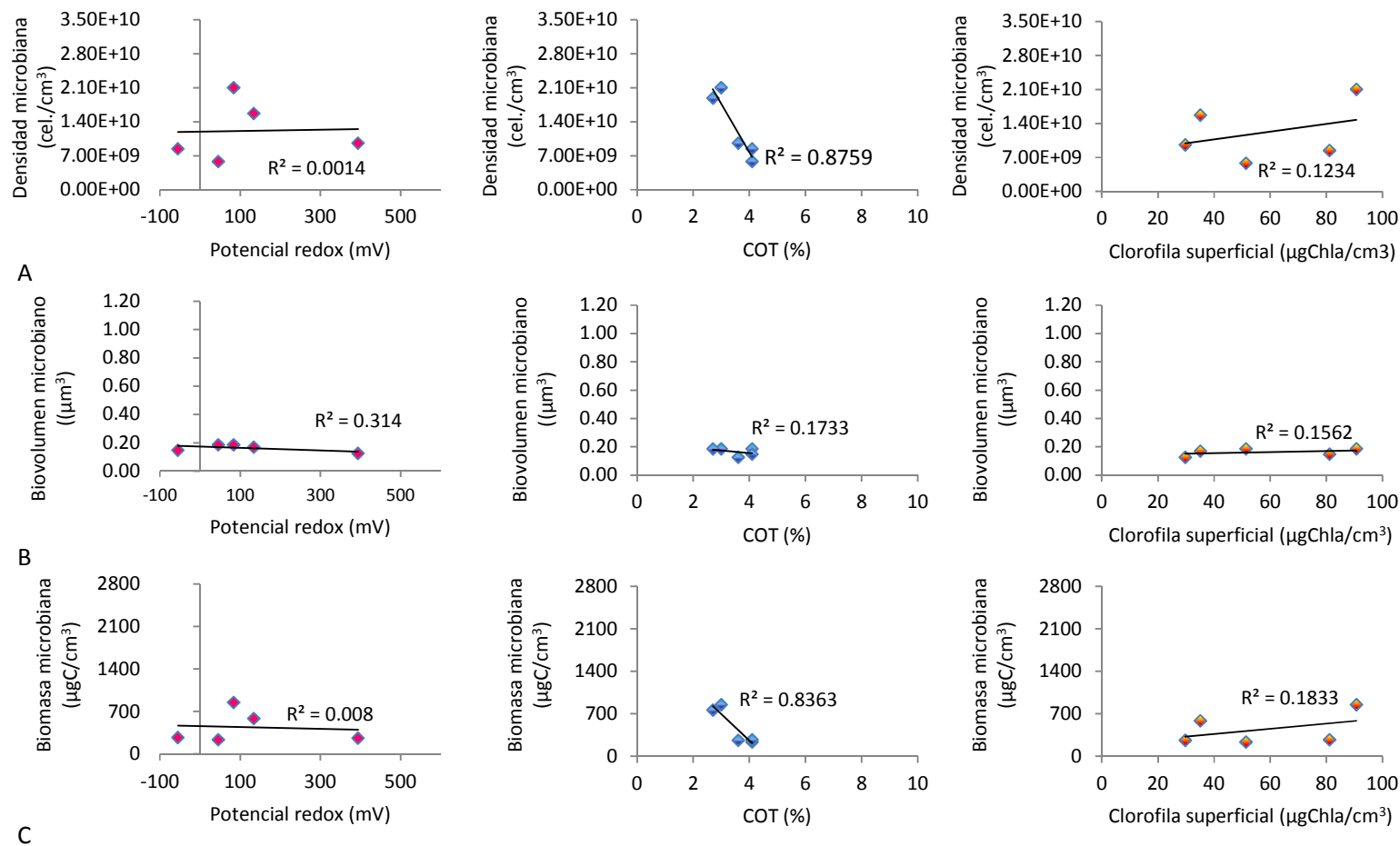
**Figura 24.** Gráfico de dispersión de puntos entre todos los valores de las variables microbianas encontrados en el nivel 1 y los parámetros sedimentarios. (A) Densidad microbiana (cel./cm<sup>3</sup>). (B) Biovolumen microbiano (µm<sup>3</sup>). (C) Biomasa microbiana (µgC/cm<sup>3</sup>).



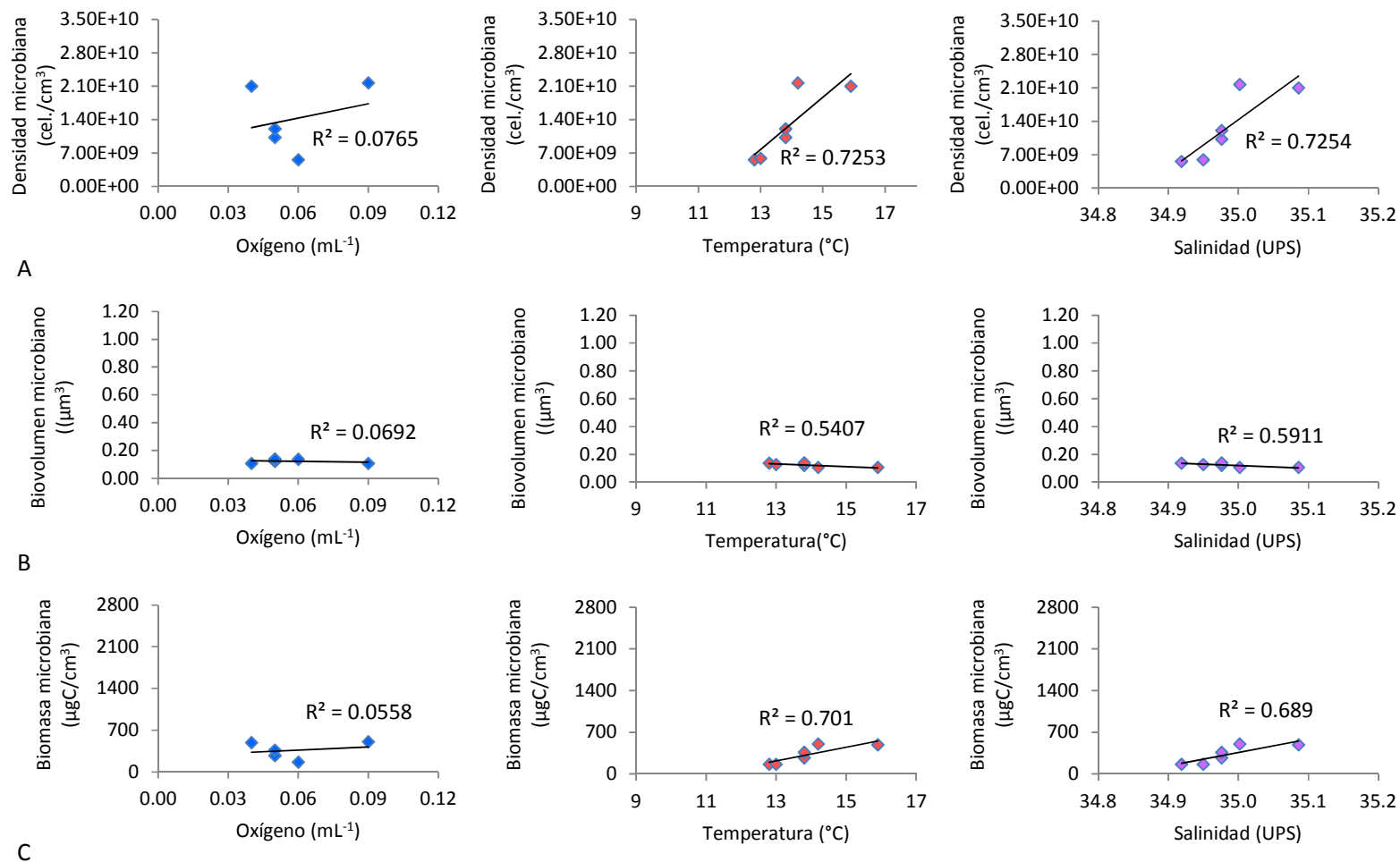
**Figura 25.** Gráfico de dispersión de puntos entre todos los valores de las variables microbianas y clorofila (µgChla/cm<sup>3</sup>). (A) Densidad microbiana (cel./cm<sup>3</sup>). (B) Biovolumen microbiano (µm<sup>3</sup>). (C) Biomasa microbiana (µgC/cm<sup>3</sup>).



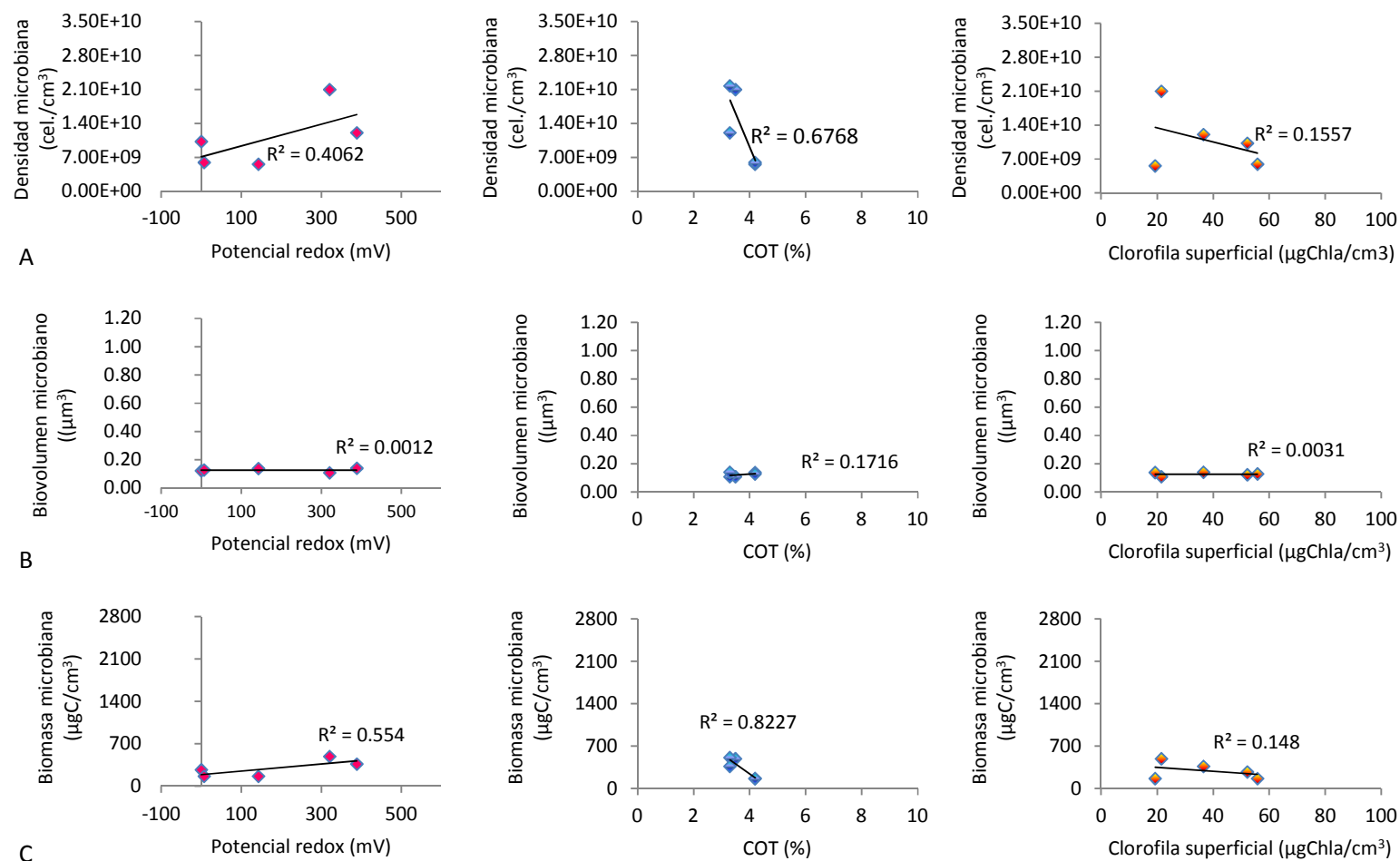
**Figura 26.** Gráfico de dispersión de puntos entre todos los valores de las variables microbianas encontrados en el nivel 1 y los parámetros oceanográficos dentro de la estación 1. (A) Densidad microbiana (cel./cm<sup>3</sup>). (B) Biovolumen microbiano (μm<sup>3</sup>). (C) Biomasa microbiana (μgC/cm<sup>3</sup>).



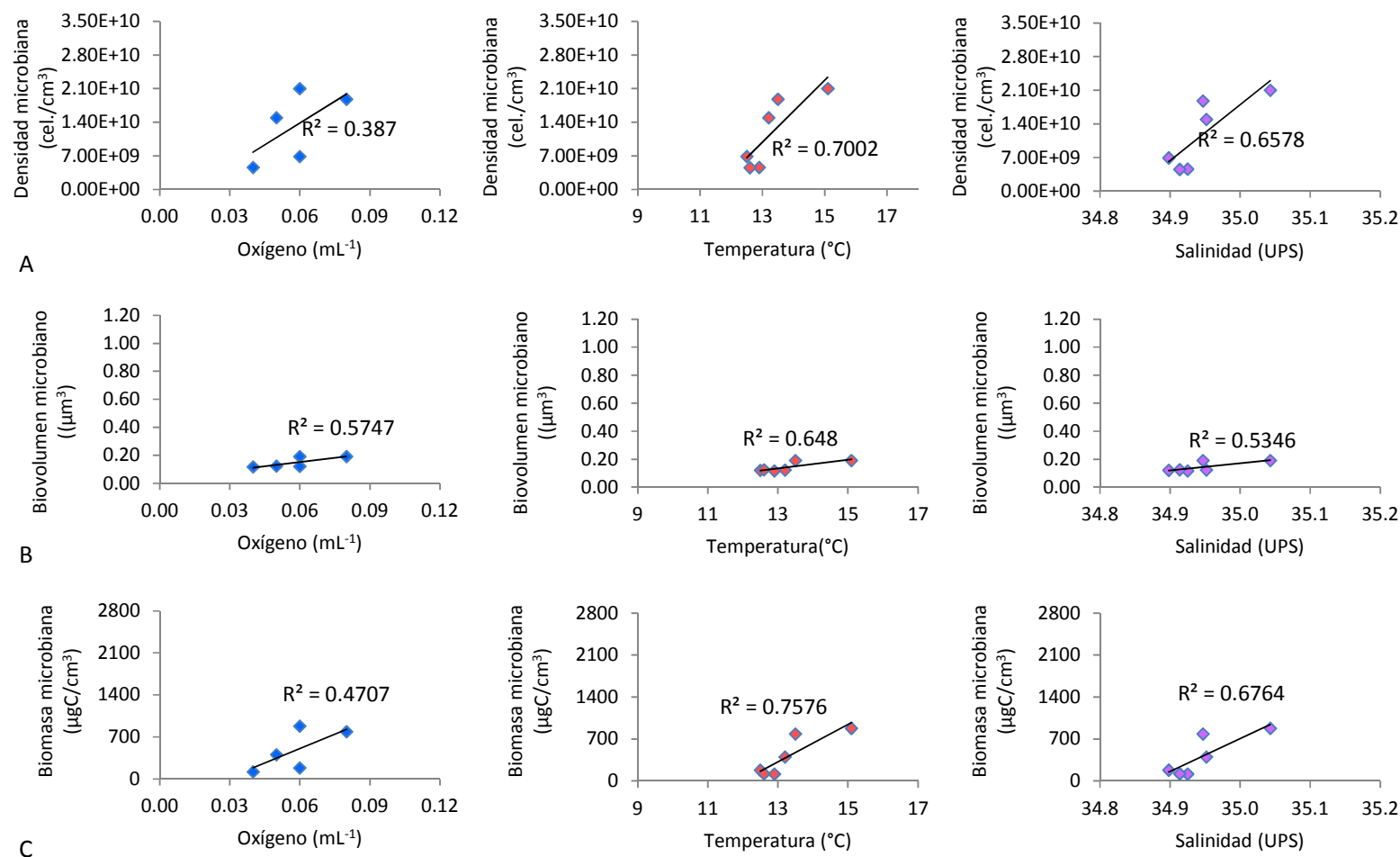
**Figura 27.** Gráfico de dispersión de puntos entre todos los valores de las variables microbianas encontrados en el nivel 1 y los parámetros sedimentarios dentro de la estación 1. (A) Densidad microbiana (cel./cm<sup>3</sup>). (B) Biovolumen microbiano (µm<sup>3</sup>). (C) Biomasa microbiana (µgC/cm<sup>3</sup>).



**Figura 28.** Gráfico de dispersión de puntos entre todos los valores de las variables microbianas encontrados en el nivel 1 y los parámetros oceanográficos dentro de la estación 2. (A) Densidad microbiana (cel./cm<sup>3</sup>). (B) Biovolumen microbiano (μm<sup>3</sup>). (C) Biomasa microbiana (μgC/cm<sup>3</sup>).

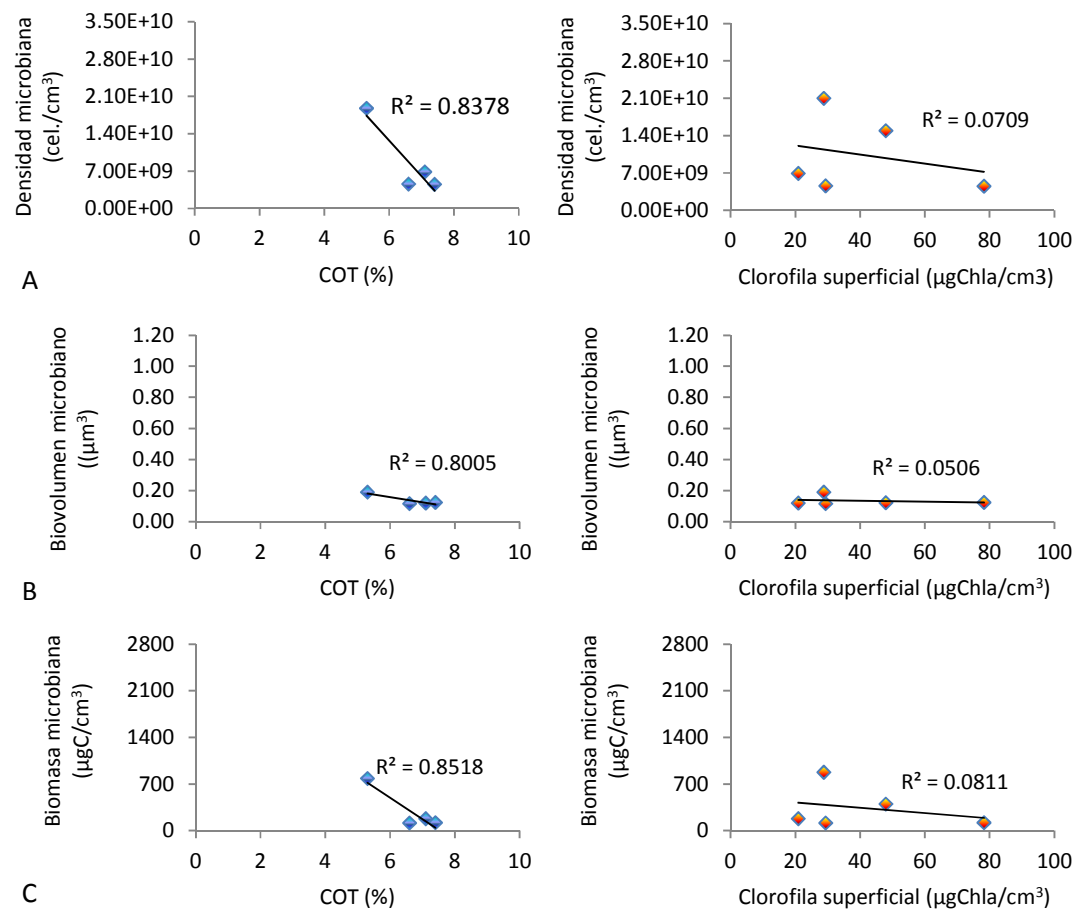


**Figura 29.** Gráfico de dispersión de puntos entre todos los valores de las variables microbianas encontrados en el nivel 1 y los parámetros sedimentarios dentro de la estación 2. (A) Densidad microbiana (cel./cm<sup>3</sup>). (B) Biovolumen microbiano (µm<sup>3</sup>). (C) Biomasa microbiana (µgC/cm<sup>3</sup>).

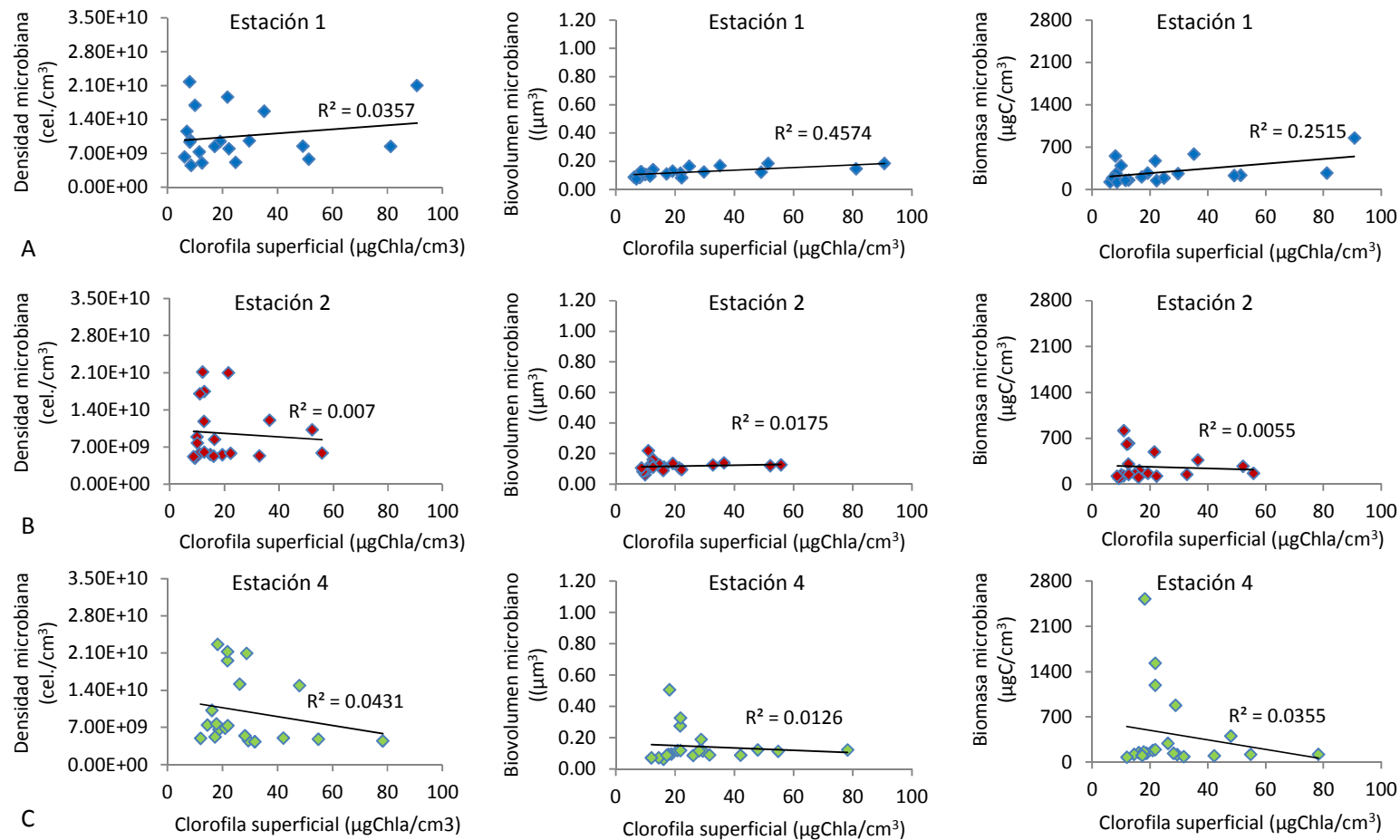


**Figura 30.** Gráfico de dispersión de puntos entre todos los valores de las variables microbianas encontrados en el nivel 1 y los parámetros oceanográficos dentro de la estación 4. (A) Densidad microbiana (cel./cm<sup>3</sup>). (B) Biovolumen microbiano (μm<sup>3</sup>). (C) Biomasa microbiana (μgC/cm<sup>3</sup>).

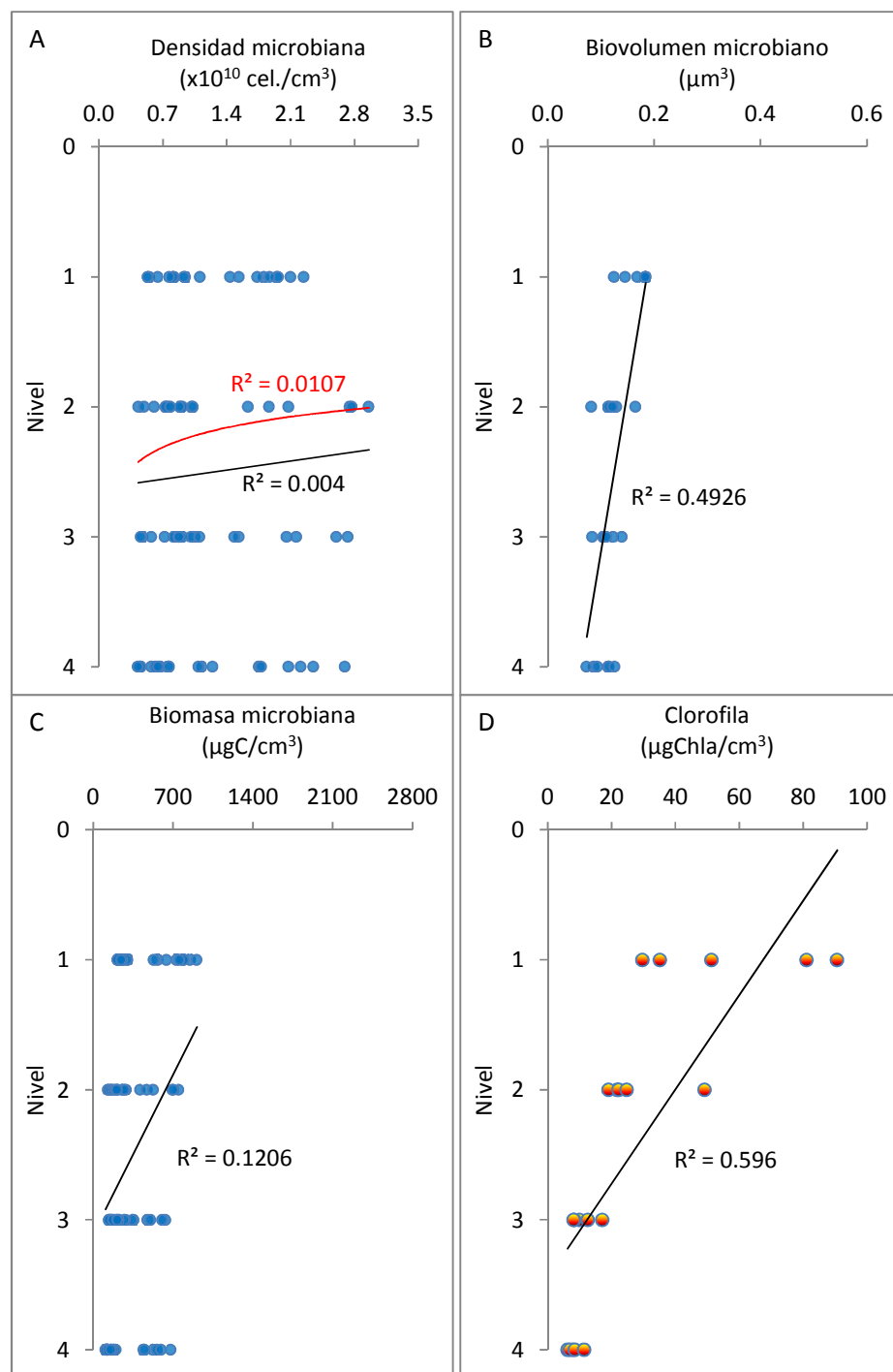




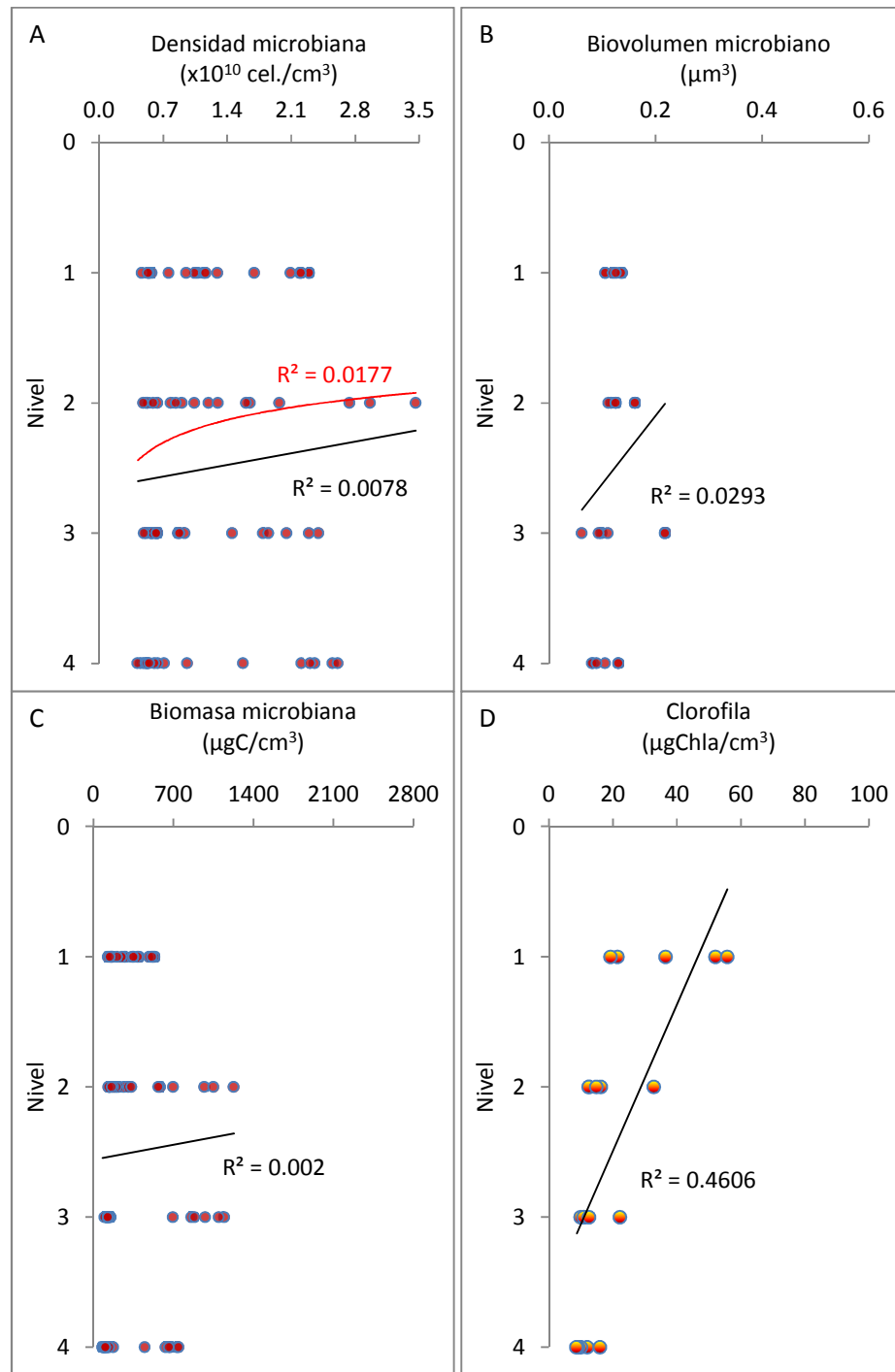
**Figura 31.** Gráfico de dispersión de puntos entre todos los valores de las variables microbianas encontrados en el nivel 1 y los parámetros sedimentarios dentro de la estación 4. (A) Densidad microbiana (cel./cm<sup>3</sup>). (B) Biovolumen microbiano (µm<sup>3</sup>). (C) Biomasa microbiana (µgC/cm<sup>3</sup>).



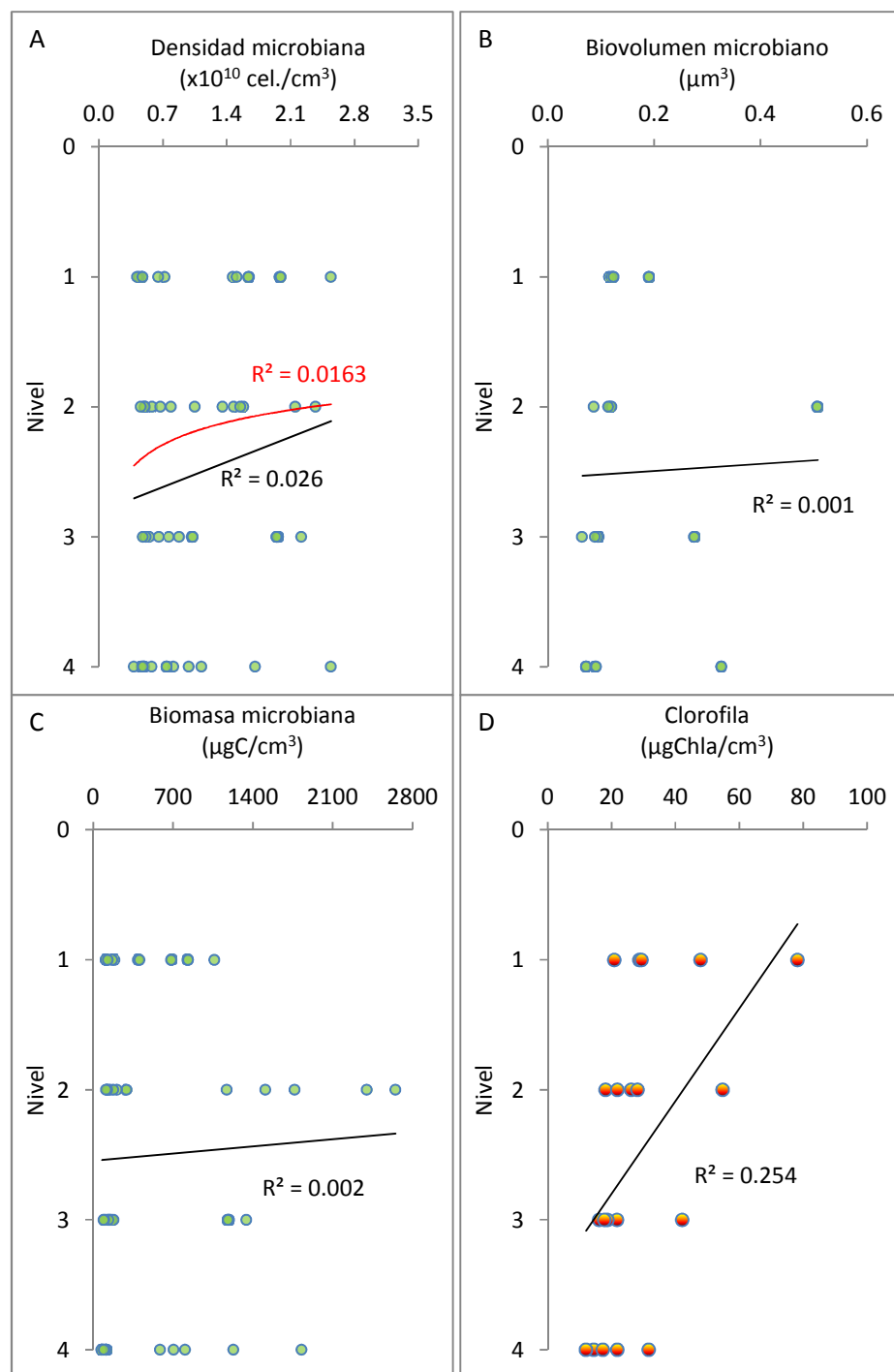
**Figura 32.** Gráfico de dispersión de puntos entre los valores de las variables microbianas y la clorofila (µgChla/cm³) de todos los niveles en cada estación. (A) Estación 1 = 48 m. (B) Estación 2 = 93 m. (C) Estación 4 = 143 m.



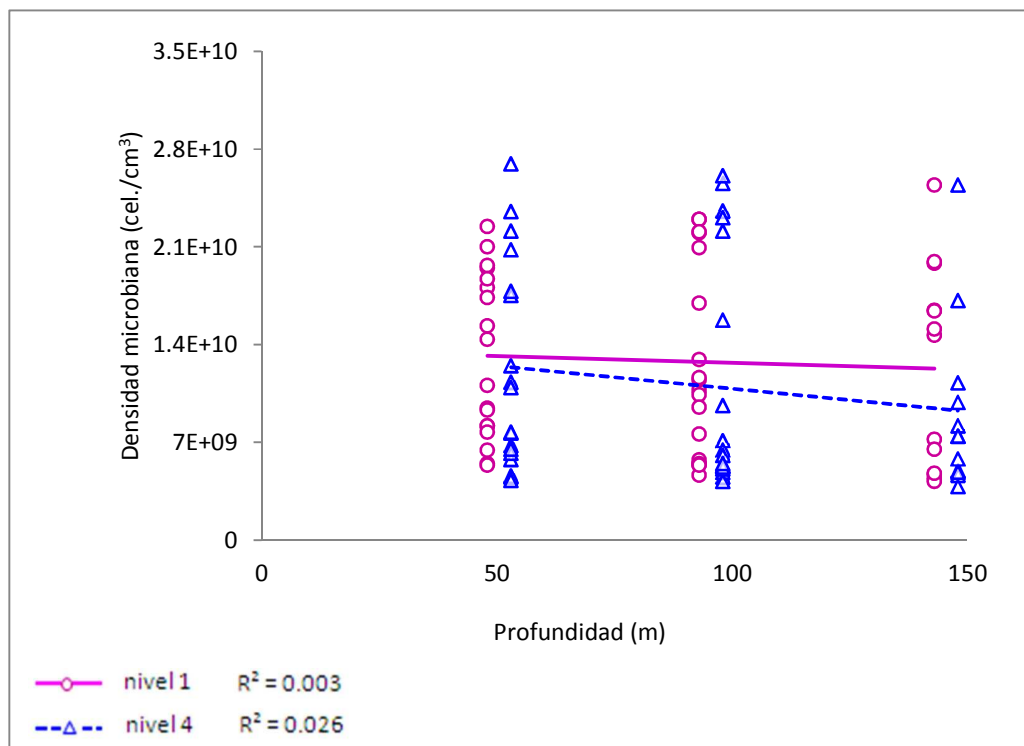
**Figura 33.** Variables microbianas en los 4 niveles de profundidad del sedimento para la estación 1 durante el año 2007. (A) Densidad microbiana (cel./cm<sup>3</sup>). (B) Biovolumen microbiano ( $\mu\text{m}^3$ ). (C) Biomasa microbiana ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ ). (D) Clorofila ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ )



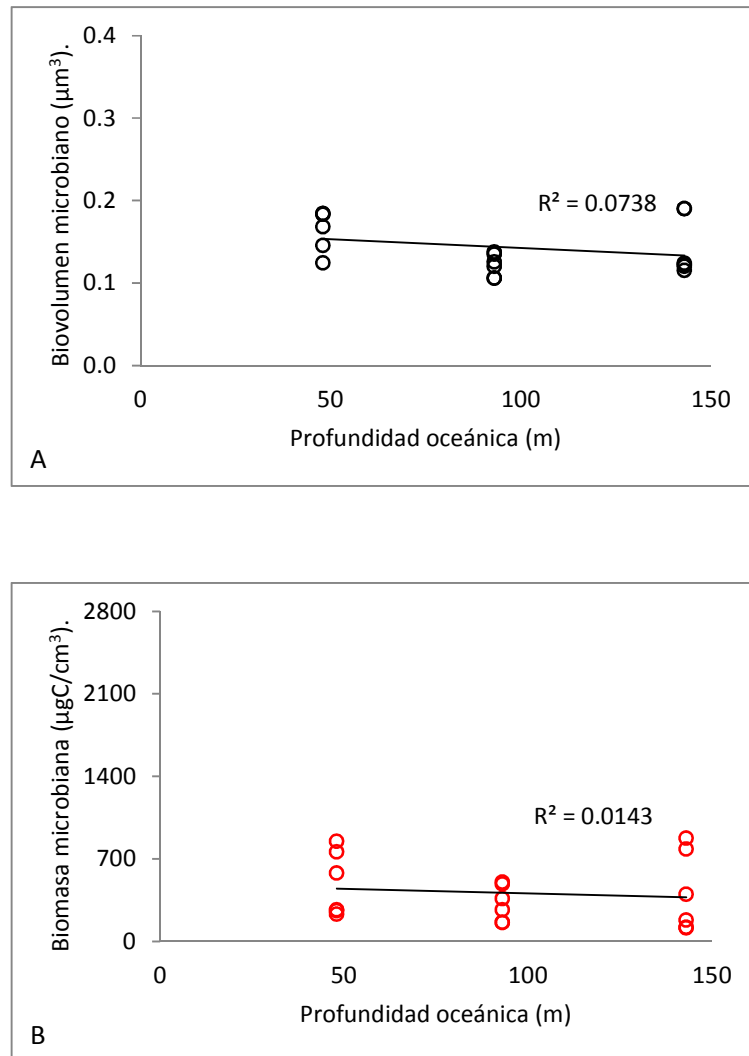
**Figura 34.** Variables microbianas en los 4 niveles de profundidad del sedimento para la estación 2 durante el año 2007. (A) Densidad microbiana (cel./cm<sup>3</sup>). (B) Biovolumen microbiano ( $\mu\text{m}^3$ ). (C) Biomasa microbiana ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ ). (D) Clorofila ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ ).



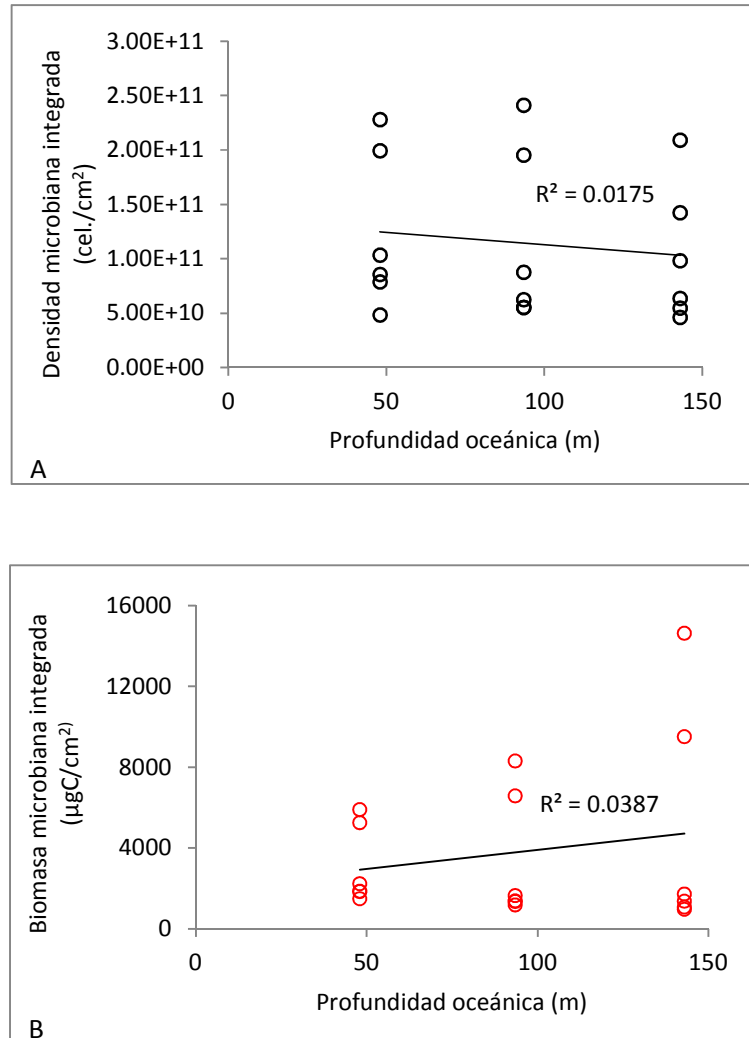
**Figura 35.** Variables microbianas en los 4 niveles de profundidad del sedimento para la estación 4 durante el año 2007. (A) Densidad microbiana (cel./cm<sup>3</sup>). (B) Biovolumen microbiano ( $\mu\text{m}^3$ ). (C) Biomasa microbiana ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ ). (D) Clorofila ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ ).



**Figura 36.** Densidad microbiana (cel./cm<sup>3</sup>) en el nivel 1 y el nivel 4 versus la profundidad oceánica de la estación 1 = 48 m, estación 2 = 93 m y estación 4 = 143 m.



**Figura 37.** (A) Biovolumen ( $\mu\text{m}^3$ ) y (B) biomasa microbiana ( $\mu\text{gC}/\text{cm}^3$ ) en el nivel 1 versus la profundidad oceánica de la estación 1 = 48 m, estación 2 = 93 m y estación 4 = 143 m.



**Figura 38.** (A) Densidad microbiana integrada (cel./cm<sup>2</sup>) y (B) biomasa microbiana integrada (µgC/cm<sup>2</sup>) versus la profundidad oceánica de las estaciones de estudio. Estación 1 = 48 m, estación 2 = 93 m y estación 4 = 143 m.



## **GLOSARIO**

### **Aceptores de electrones**

Compuestos que reciben los electrones de la oxidación del sustrato primario.

### **Bacterias autótrofas**

Son aquellas bacterias que utilizan el carbono inorgánico como fuente de carbono para sus actividades biosintéticas.

### **Bacterias heterótrofas**

Son aquellas bacterias que utilizan el carbono orgánico como fuente de carbono para sus actividades biosintéticas.

### **Bacterias mixótrofas**

Son aquellas bacterias con metabolismo energético litótrofo (obtienen energía de compuestos inorgánicos), pero requieren sustancias orgánicas como nutrientes para su metabolismo biosintético.

### **Ciclos Biogeoquímicos**

Describen el movimiento y la conversión de elementos que son nutrientes esenciales por medio de la actividad bioquímica que se producen en la atmósfera, en la hidrósfera y en la litósfera. Se dan a escala mundial y afectan profundamente a la geología y al ambiente actual de nuestro planeta.

### **Desnitrificación**

Proceso metabólico por el cual ocurre la pérdida de nitratos en un ecosistema debido a la reducción del mismo, al actuar como aceptor de electrones. Lo realiza bacterias autótrofas y heterótrofas.

**Enzimas**

Moléculas de naturaleza proteica que catalizan reacciones químicas termodinámicamente posibles.

**Fluorocromos**

Es una sustancia química que tiene la capacidad de conjugarse con estructuras celulares y dotarles de fluorescencia. Su principio radica en la propiedad de absorber una longitud de onda determinada (longitud de onda de excitación) y emitir una longitud de onda superior (longitud de onda de emisión) que es la observada por el investigador.

**Hidrólisis**

Descomposición de sustancias orgánicas o inorgánicas complejas en otras más sencillas por acción del agua.

**Metabolismo**

Conjunto de reacciones bioquímicas y procesos físico-químicos que ocurren en una célula y que le permiten desarrollar sus actividades biológicas.

**Metanogénesis**

Formación de metano mediante la reducción del dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) por parte de las bacterias metanógenas.

**“Microbial loop”**

Ruta trófica que ocurre en ambientes acuáticos, en la cual el carbono orgánico disuelto es reintroducido en las redes tróficas a través de su incorporación en bacterias. Estas bacterias son consumidas mayormente por protistas, como flagelados y ciliados. Estos protistas a su vez son consumidas por organismos acuáticos de mayor tamaño.

**Minimultisacatestigos**

Muestrador múltiple de sedimentos con capacidad para 04 tubos, cada uno con 9,5 cm. de diámetro interno, y 60 cm. de longitud.

**Productividad primaria**

Es la cantidad de materia orgánica producida por aquellos organismos con capacidad de fotosíntesis u organismos autótrofos, que emplean una fuente inorgánica de carbono.

**Sulfato reducción**

Proceso metabólico relativamente pobre que tiene como producto final al sulfuro de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{S}$ ). Lo realiza bacterias autótrofas y heterótrofas.

**Zona Mínima de Oxígeno**

Regiones en donde la concentración de oxígeno es menor a 0.5 mL./L (o alrededor de 7.5% de saturación;  $<22\mu\text{M}$ ). Está presente en diferentes profundidades en la columna de agua (10-1300 m). Esta zona se forma por el consumo bioquímico del oxígeno, con la circulación afectando su distribución y posición dentro de la columna de agua. En los lugares en los que la mínima de oxígeno intercepta el margen continental o las montañas marinas, tiene un mayor efecto sobre las comunidades bénticas.